ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. III No 3

1 9 5 4

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
31 DEC 1954

PRZEPISY AUTORSKIE

Jako materiał publikacyjny mogą być nadsyłane rozprawy i komunikaty dotyczące prac oryginalnych z dziedziny mikrobiologii ogólnej, rolniczej i przemysłowej oraz referaty przeglądowe nigdzie dotychczas nie opublikowane.

Jednostronne maszynopisy o podwójnych odstępach, z marginesem 4 cm należy przesyłać w 2 egz. na ręce sekretarza: Zakład Mikrobiologii Ogólnej UMCS, Lublin, Al. Racławickie 20.

Do prac pisanych po polsku należy dołączyć streszczenie rosyjskie oraz angielskie, francuskie lub niemieckie. Streszczenia powinny zawierać zasadnicze konkluzje pracy i nie powinny przekraczać 15% tekstu. Prace w obcym języku (rosyjski, angielski, francuski, niemiecki) mogą być nadsyłane po uprzednim porozumieniu się z redakcją; należy do nich dołączyć streszczenie polskie i rosyjskie lub polskie i angielskie (francuskie, niemieckie). Każda praca powinna być zaopatrzona w tytuł w języku publikacji oraz streszczenia, nazwisko i inicjały autora(ów), nazwę i adres zakładu w którym wykonano pracę.

Pożądany jest następujący układ prac: a) krótki wstęp, b) metody badania; c) wyniki, d) dyskusja i wnioski, e) krótkie streszczenie w języku polskim — nie więcej niż 3% tekstu, f) piśmiennictwo, g) streszczenie obcojęzyczne (nie dłuższe niż 15% tekstu).

Prace należy ujmować treściwie; wstęp powinien zawierać tylko dane bezpośrednio odnoszące się do opracowanego tematu; metody należy opisać krótko; tam, gdzie to możliwe, powoływać się na oryginalne opisy metod.

Wyniki mogą być ilustrowane tablicami i wykresami, należy jednak unikać tablic i wykresów dla przedstawienia tych samych danych. Wykresy i tablice powinny być możliwie przejrzyste i nieskomplikowane i ilustrować zasadnicze i istotne wyniki. Rysunki i wykresy należy sporządzać w dwukrotnym powiększeniu, tuszem na bristolu bez połysku — każdy na oddzielnej kartce, zaopatrzonej na odwrocie w wypisane ołówkiem: tytuł pracy, nazwisko autora oraz nr rysunku lub wykresu. Objaśnienia do rysunków i wykresów należy dołączyć na osobnej kartce z wyraźnym zaznaczeniem nru rysunku i wykresu. W objaśnieniach należy podawać powiększenie. Fotografie powinny być kontrastowe, na matowym papierze. Ilość tablic i rysunków musi być ograniczona do minimum.

W maszynopisie należy zaznaczyć miejsce, w którym ma być umieszczony rysunek (wykres, fotografia) oraz dołączyć wykaz tablic i rysunków z podaniem numeracji i miejsca w tekście.

Przy powoływaniu się na piśmiennictwo należy podawać nazwiska autorów i rok publikacji, np. Cienkowski (18..) lub (Cienkowski 18..). Jeżeli praca cytuje więcej niż jedną publikację danego autora z tego samego roku, należy to uwidocznić dodając małe litery (np. 1887 a. 1887 b itd.).

Wykaz cytowanych prac (piśmiennictwo) powinien być sporządzony w układzie alfabetycznym i powinien zawierać następujące elementy: nr porządkowy, nazwisko i inicjały autora(ów), kropka, rok, kropka, tytuł pracy, nazwę czasopisma w przyjętych skrótach, tom, ewentualnie zeszyt, stronice czasopisma: w wypadku zaś cytowania książki: nr porządkowy, nazwisko i inicjały autora(ów), rok wydania, tytuł książki, wydanie, miejsce i firmę wydawcy, ewentualnie stronicę tekstu.

W tekście i tablicach należy stosować przyjęte skróty, np. ml a nie ccm, g — a nie gr, 100° — a nie 100°C, M-molarny, N-normalny itd.

Przy opisie roztworów należy rozróżniać „%" — g na 100 g roztworu, „% objętościowy" — ml na 100 ml roztworu „stężenie %" — g na 100 ml rozpuszczalnika.

Nazwy drobnoustrojów należy podawać w brzmieniu łacińskim, przy pierwszym wzmiankowaniu — w pełnym brzmieniu. Dopuszczalne jest również jednoczesne podawanie przyjętych ogólnie nazw polskich.

W dalszym tekście nazwy rodzajowe (nie gatunkowe) należy skracać lub podawać tylko nazwy polskie.

Autor otrzymuje 25 odbitek bezpłatnie; o dodatkowe odbitki autor może zwrócić się do redakcji przy składaniu maszynopisu.

Członkowie Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów otrzymują *Acta* bezpłatnie, po przekazaniu dodatkowej składki rocznej w wysokości 28.— zł. do Sekcji Mikrobiologii Ogólnej PTM (adres: Redakcja Acta Microbiol. Polon., Lublin, Al. Racławickie 20).

POLSKIE TOWARZYSTWO MIKROBIOLOGÓW
SEKCJA MIKROBIOLOGII OGÓLNEJ, ROLNICZEJ I PRZEMYSŁOWEJ

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. III No 3

1954
PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE

RADA REDAKCYJNA

Przewodniczący: Jadwiga Ziemięcka, członek-korespondent PAN — Lublin, Kazimierz Bassalik, członek tytularny PAN — Warszawa, Józef Heller, członek-korespondent PAN — Warszawa, Jadwiga Jakubowska — Łódź, Adolf Joszt — Gliwice, Aniela Kozłowska — Kraków, Władysław Kunicki-Goldfinger — Lublin, Eugeniusz Pijanowski — członek-korespondent PAN — Warszawa, Feliks Przesmycki — Warszawa.

KOMITET REDAKCYJNY

Redaktor naczelny — Władysław Kunicki-Goldfinger
Sekretarz Redakcji — Kazimierz Dygdała

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE — WARSZAWA 1954

Nakład 1012+150	*Oddano do składania 24.VI.54*
Ark. wyd. 13,15 Ark. druk. 9,5	*Podpisano do druku 21.VIII.54*
Papier bezdrz. III kl. 80 g. 70×100	*Druk ukończono 30.VIII.54*
Cena zł 10.—	*Zamówienie 829c 5-B-11475*

DRUKARNIA IM. REW. PAŹDZIERNIKOWEJ — WARSZAWA

Wł. Kunicki-Goldfinger

ZMIENNOŚĆ U BAKTERII

„Lieve God wat sijnder al wonderen in so een kleyn schepsel" [1].

A. Leeuwenhoek (1693)

„Istota rzeczy" czy „substancja" są również względne; wyrażają one tylko pogłębienie poznania przedmiotów przez człowieka i jeśli wczoraj pogłębienie to nie wychodziło poza atom, dzisiaj — poza elektron i eter, to materializm dialektyczny z naciskiem stwierdza tymczasowy, względny, przybliżony charakter wszystkich tych kamieni milowych na drodze poznania przyrody... Przyroda jest nieskończona".

W. I. Lenin, *Materializm i empiriokrytycyzm*, s. 300.

Wstęp

Przeszło dwieście lat upłynęło pomiędzy momentem napisania prostych wyrazów podziwu dla cudów przyrody, które naiwny i jednocześnie genialny „pierwszy mikrobiolog" — Antoni van Leeuwenhoek zamieścił w jednym ze swych słynnych listów, a ukazaniem się *Materializmu i empiriokrytycyzmu* Lenina.

W ciągu tych dwustu lat zostały założone podwaliny wszystkich dyscyplin biologicznych, zgromadzono olbrzymią ilość obserwacji, opracowano podstawowe metody badawcze. Na początku XX wieku w dziedzinie biologii sformułowano zasadnicze hipotezy i teorie, starające się ująć bogactwo znanych faktów w sharmonizowaną i logiczną całość. Teorie te okazały się „również względne", „tymczasowe", „przybliżone", a dalsze pogłębienie znajomości zjawisk życia zmuszało i nadal zmusza badaczy do ciągłej rewizji, doskonalenia, przetwarzania starych, już nie obejmujących bogactwa faktów, koncepcji i tworzenia nowych, lepiej tłumaczących „istotę rzeczy", które z kolei ustąpią miejsca swym następcom.

„Przyroda jest nieskończona" i poznanie jej wymaga nieskończonego rozwoju nauki.

Dlatego też — chociaż o zmienności bakterii pisano wiele, a literatura tego zagadnienia obejmuje dziś już tysiące pozycji, celowe wydaje się dokonanie przeglądu dotychczasowego dorobku w tej dziedzinie i ujęcie go w ramy hipotezy czy też wielu hipotez.

[1] „Boże mój, co za cuda w tak maleńkim stworzeniu".

Przeto, zdając sobie sprawę ze swej niekompetencji, zdecydowałem się jednak skorzystać z zaproszenia Zarządu Głównego Tow. Mikrobiologów Polskich i poddać dyskusji swe własne poglądy na zagadnienie zmienności u bakterii.

Nie jest zamiarem moim uwzględnianie w tym artykule całokształtu problemu i dokonanie kompletnego przeglądu niesłychanie bogatego piśmiennictwa.

O ile by tylko artykuł ten przyczynił się do jaśniejszego sformułowania zadań, jakie stoją przed nauką o zmienności drobnoustrojów, do spopularyzowania najnowszych osiągnięć wśród szerokich kół mikrobiologów i biologów polskich, do podjęcia rzeczowej i płodnej dyskusji — uważałbym przedsięwzięcie swoje za w pełni udane.

W doborze materiału kierowałem się nie tyle dążeniem do jak najpełniejszego wyzyskania literatury, co zamiarem zilustrowania zasadniczych tez. W spisie literatury nie zamieszczono więc szeregu publikacji, które nie wiążą się ściśle z zasadniczą linią rozumowania. Piśmiennictwo polskie starałem się uwzględnić możliwie jak najpełniej, ale i tu opuszczono wiele prac, które uważałem, choć może niesłusznie, za mniej dla omawianych kwestii ważne, lub te, które mimo starań okazały się niedostępne.

* * *

Omawianie zagadnienia zmienności na przykładzie bakterii jest z jednej strony zadaniem niesłychanie wdzięcznym, a z drugiej zaś — bardzo trudnym i skomplikowanym.

Niejednokrotnie, szczególnie w starszej literaturze, spotyka się pogląd o nieprzydatności bakterii do badań nad zmiennością i dziedzicznością, motywowany brakiem rozrodu płciowego u tej grupy organizmów, a zatem niemożnością ustalenia dziedziczności cech.

Zagadnienie płciowości u bakterii omawiane jest w rozdz. X; tu zaznaczyć wypada tylko, że obecnie znamy dostatecznie sprawdzone przypadki krzyżowania dwu odmian bakterii i tworzenia mieszańców (L e d e r b e r g i T a t u m, 1946 a, b).

Zastrzeżenie to nie może więc być uznane za wystarczająco umotywowane.

Ponadto odnosi się ono tylko do jednej strony zagadnienia — mechanizmu dziedziczności — przekazywania cech, natomiast nie zmniejsza w żadnym stopniu wartości bakterii jako obiektu badań nad mechanizmem zmienności — powstawania nowych cech.

Ewolucyjny rozwój bakterii, podobnie jak i innych organizmów, jest przejawem ścierania się tych obu przeciwstawnych procesów — zmienności i dziedziczności.

Oba te procesy uwarunkowane są zarówno czynnikami wewnętrznymi (swoistością i reaktywnością białek i kwasów nukleinowych), jak i oddziaływaniem środowiska.

Zarówno wewnątrzkomórkowy bieg przemian metabolicznych, jak i wpływy nań środowiska o wiele łatwiej badać u bakterii niż u organizmów wyższych. W pełni wykorzystuje tę okoliczność współczesna biochemia, na której osiągnięcia częstokroć przyjdzie się nam powoływać.

Zmiana kierunku przemian metabolicznych, uwidoczniająca się w zaniku lub zmodyfikowaniu starej albo też w pojawianiu się nowej cechy, stopień

ustalenia takiej zmiany, zależność rodzaju i intensywności zmiany od poddających się kontroli i pomiarowi czynników o wiele łatwiej badać na prostym stosunkowo modelu bakterii.

Przyczynia się do tego wiele okoliczności.

Przede wszystkim kontakt wnętrza ciała bakterii z otoczeniem jest o wiele bliższy niż u organizmów wyższych. Główną przyczyną tego jest znikomy rozmiar ich ciała.

Weźmy pod uwagę małego ziarenkowca o średnicy ciała równej 1 μ, a zatem o powierzchni wynoszącej — przy założeniu, że ziarenkowiec ma formę regularnej kulki — 3,14 μ^2, czyli 3,14 · 10^{-8} cm^2. Masa ciała takiej bakterii wynosi ca 10^{-12} g, a zatem stosunek powierzchni do masy równać się będzie:

$$\frac{3{,}14 \cdot 10^{-8}}{10^{-12}} = 3{,}14 \cdot 10^4 \frac{cm^2}{g}.$$

Dla organizmu człowieka stosunek ten wynosić będzie w przybliżeniu:

$$\frac{1{,}7 \cdot 10^4}{7 \cdot 10^4} = 0{,}24 \frac{cm^2}{g}.$$

Na jednostkę masy przypada więc u bakterii około 130 000 razy większa powierzchnia styku ze środowiskiem niż u człowieka.

Oczywiście takie schematyczne zestawienie liczb jest dużym uproszczeniem, niemniej jednak unaocznia nam ścisły kontakt ciała bakterii z otoczeniem, o wiele bliższy i bardziej intymny niż u innych istot żywych.

Wynikające z tego bezpośrednie oddziaływanie ciągle zmieniającego się środowiska na protoplazmę bakterii jest tylko w bardzo małym stopniu „buforowane" przez regulacyjny mechanizm organizmu.

Narządy i komórki organizmów wyższych, zwłaszcza zwierzęcych, znajdują się zawsze we właściwym dla danego gatunku wewnętrznym, płynnym środowisku. Środowisko to, dzięki bardzo skomplikowanemu mechanizmowi regulacyjnemu, którego elementami są zarówno reakcje plazmatyczne, jak i sekrecyjne, wydalnicze, ruchowe oraz nerwowe, ma ustalony skład chemiczny i niemal niezmienne własności fizyczne, charakterystyczne dla danego gatunku, płci i wieku.

Dopuszczalne fizjologiczne wahania składu chemicznego i wielkości, charakteryzujących to środowisko pod względem fizycznym, są niewielkie a u ssaków wprost znikome. Jakiekolwiek bądź nieco większe, niekompensowane odchylenie jest objawem patologicznym, prowadzącym do w różnym stopniu wyrażonej niewydolności organizmu lub do jego śmierci.

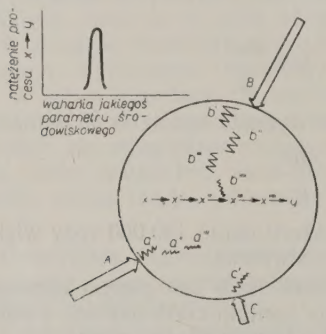
Ten mechanizm regulacyjny zapewnia narządom, tkankom i komórkom, a więc i procesom życiowym w nich zachodzącym, pewną autonomiczną niezależność od nieustannych wahań warunków środowiska zewnętrznego.

Cała ewolucja świata zwierzęcego zmierza do jak najpełniejszego uniezależnienia się od świata zewnętrznego, osiągając najwyższy stopień u ssaków, a szczyt — u człowieka, który kształtuje swe środowisko nie tylko za pomocą mechanizmów fizjologicznych, lecz również za pomocą intelektu i poczynań zbiorowych — społecznych.

U organizmów wyższych czynnik środowiskowy najczęściej, o ile nie jest zbyt silny i długotrwały, nie dociera do wnętrza organizmu i zostaje po drodze zbuforowany, skompensowany, zniwelowany.

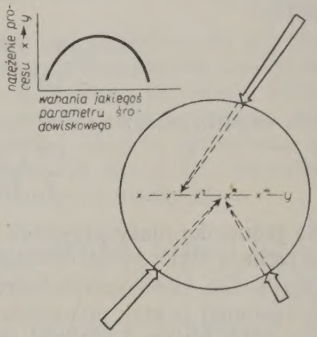
Zmiany temperatury, wilgotności, składu chemicznego środowiska — o ile zachodzą w pewnych granicach dopuszczalnych dla danego gatunku — nie wnikają jako takie do organizmu, nie powodują analogicznych lub podobnych zmian środowiska wewnętrznego.

Odbijają się one w środowisku wewnętrznym raczej jako skutki podrażnienia mechanizmów recepcyjnych i regulujących, wywołując w nim zmiany o zupełnie innym charakterze chemicznym i fizycznym i o bez porównania mniejszym natężeniu.



Rys. 1 Organizm wyższy

Wnętrze okręgu — środowisko wewnętrzne. Strzałki — A, B, C — trzy różne, o różnym nasileniu czynniki zewnętrzne, działające na organizm. Linie zygzakowate (a' — a''', b' — b'''', c') — reakcje kompensujące, prowadzące do przetworzenia i osłabienia oddziaływania. Linia x→x'→.....y — reakcja biochemiczna, stanowiąca jedno z ogniw przemiany materii organizmu. Czynniki słabsze (A i C) nie oddziaływują zupełnie na dany proces, zostając po drodze „zbuforowane". Silniejszy czynnik B — wywołuje szereg reakcji kompensacyjnych b', b'' i td. i oddziaływuje na proces biochemiczny ale w postaci przetworzonej i osłabionej jako wtórny czynnik b'''' — o innym charakterze.



Rys. 2 Organizm bakterii

Wnętrze okręgu — środowisko wewnętrzne. Strzałki — A, B, C — trzy różne, o różnym nasileniu czynniki zewnętrzne, działające na organizm. Strzałki kreskowane wewnątrz okręgu — A', B', C, — zmiany środowiska wewnętrznego, analogiczne co do charakteru z czynnikami zewnętrznymi, tylko nieco osłabione. Linia x→x→....y — reakcja biochemiczna, stanowiąca jedno z ogniw przemiany materii organizmu. Czynniki zewnętrzne — wnikają do wnętrza organizmu i oddziaływują jako takie na dany proces biochemiczny.

Wykresy umieszczone obok schematów ilustrują tolerancję danej przemiany biochemicznej (x→.....→ →y) w stosunku do wahań jakiegoś parametru, charakteryzującego środowisko wewnętrzne. Tolerancja ta u bakterii jest znacznie większa niż w komórkach organizmu wyższego.

Tę „pośredniość" oddziaływania czynników zewnętrznych na środowisko wewnętrzne organizmów wyższych schematycznie, a zatem niewątpliwie w pewnym stopniu karykaturalnie, ilustruje rys. 1.

Odmiennie przedstawia się pod tym względem sytuacja w świecie bakterii. Każda zmiana otoczenia — ciepłoty, wilgotności, składu chemicznego,

promieniowania itd. — odbija się bezpośrednio na „wewnętrznym" środowisku bakterii, które stanowi protoplast.

Jedynym mechanizmem regulacyjnym jest tu reakcja plazmatyczna i wybiórcza przepuszczalność błony cytoplazmatycznej. Toteż regulacja ta jest bardzo niedoskonała i nawet stosunkowo nieznaczne zmiany w otoczeniu wywołują analogiczne zmiany środowiska wewnętrznego.

Rzecz prosta odnosi się to przede wszystkim do wahań temperatury, ale dotyczy również mineralnego składu podłoża, jego pH, ciśnienia osmotycznego itp. Znana jest zależność składu popiołowego bakterii, wewnątrzkomórkowego ciśnienia osmotycznego, odczynu środowiska wewnętrznego od zmian analogicznych czynników w środowisku zewnętrznym (P o r t e r, 1947, W e r k m a n i W i l s o n, 1951).

Czynniki fizyko-chemiczne wnikają przeważnie w postaci niezmienionej i tylko nieco osłabionej do wnętrza bakterii, działając bezpośrednio na procesy metabolizmu.

Pociąga to za sobą konieczność większej tolerancji w stosunku do zmian fizyko-chemicznych, dzięki której procesy życiowe mogą zachodzić w stosunkowo szerokich granicach wahań (parametrów) wielkości, charakteryzujących środowisko protoplazmatyczne bakterii.

Tę zależność bakterii od środowiska zewnętrznego ilustruje, również schematycznie, rys. 2.

Z powyższego rozumowania wynika, że łańcuchy reakcji enzymatycznych będą u bakterii w o wiele wyższym stopniu narażone na wpływy zmian środowiskowych. Możliwość przeżycia bakterii uwarunkowana jest więc przede wszystkim dużą tolerancją w stosunku do zmian w otoczeniu, dużą plastycznością procesów metabolicznych, dużą ilością reakcji zastępczych.

Inaczej mówiąc, duża plastyczność, elastyczność fizjologiczna bakterii umożliwia im przeżycie. Z prostoty ich budowy, z prymitywności środowiska wewnętrznego i mechanizmów kompensacyjno-regulujących wynika ich nadzwyczajna zmienność. Swe istnienie zawdzięczają zdolności do szybkiej i często głęboko sięgającej modyfikacji procesów życiowych.

Dzięki jednoczesnemu istnieniu nieraz paru równoległych procesów biochemicznych, np. paru mechanizmów oddechowych (kilka typów procesu fermentacyjnego oraz oddychania tlenowego może być właściwych dla jednego szczepu bakterii), zależnie od warunków zewnętrznych czynny może być ten mechanizm, który w danych warunkach jest najsprawniejszy.

Silniej działające czynniki spowodują jednak odkształcenia w strukturach enzymatycznych, przeważnie nietrwałe i zanikające po ustaniu działania.

Pewne czynniki zmienią natomiast tak bieg syntezy enzymów, że zamiast dotychczas spotykanego białka enzymatycznego powstanie nowe, o innych właściwościach biologicznych. W ten sposób enzym, jego swoistość i rodzaj katalizowanej przezeń reakcji ulegnie modyfikacji lub zanikowi.

Zmieni się więc lub zaniknie cecha dotychczas charakterystyczna dla danej bakterii.

Zależnie od stopnia i rodzaju zmiany trwałość tej modyfikacji może być różna, inaczej mówiąc różne może być dziedziczne ustalenie nowej cechy.

Ta olbrzymia plastyczność bakterii, będąca jednocześnie jedną z najbardziej zadziwiających ich cech, czyni z nich doskonały obiekt badań nad zmiennością.

Możność ścisłego kontrolowania składu podłoża, odpowiedniego dozowania oddziaływań fizycznych, charakteryzowania czynników środowiskowych za pomocą dokładnych i jednoznacznych terminów, częstokroć wyrażonych liczbowo — ułatwia badanie warunków występowania zmiany jakiejś cechy, jej ustalania, cofania się itd.

Intensywny metabolizm bakterii, szybkie tempo rozmnażania pozwala na przebadanie w stosunkowo krótkim czasie wielu generacji. Oczywiście generacja u bakterii nie jest równocenna generacji u *Metazoa*. Niemniej jednak okoliczność ta ułatwia nam obserwację i eksperymentowanie nad zmiennością.

O przydatności bakterii jako przedmiotu badań nad zmiennością decydują zatem: ich olbrzymia plastyczność, duża szybkość procesów metabolizmu i rozmnażania, znaczny stopień uzależnienia od czynników środowiskowych, możliwość kontrolowania i regulowania warunków doświadczenia.

Interpretację wyników utrudnia jednak konieczność prowadzenia obserwacji nad wielogeneracyjnymi populacjami i zbyt skąpe jeszcze wiadomości o mechanizmie *amphimixis* u bakterii.

Do kwestii tu poruszonych (stosunek: osobnik — populacja, problem płci) powrócimy jeszcze później, obecnie wystarczy nam stwierdzenie, że rozwiązanie wielu zagadnień (np. natura czynników indukujących zmienność, charakter i mechanizm indukcji) prawdopodobnie łatwiej da się osiągnąć w mikrobiologii niż w innych działach biologii.

Rozdział I

ISTOTA ZAGADNIENIA ZMIENNOŚCI U BAKTERII

„Formą rozwoju przyrodoznawstwa, o ile ono stosuje myślenie, jest hipoteza".

F. Engels, *Dialektyka przyrody*, s. 251.

Łatwość, z jaką bakterie podlegają przemianom, rzuciła się w oczy mikrobiologom już w zaraniu rozwoju bakteriologii. Ta „proteuszowa" natura bakterii oraz niedoskonałość ówczesnych metod badawczych stały się źródłem pierwotnych hipotez pleomorficznych Zopfa, Cienkowskiego, Billrotha, Naegeliego i innych, nie uznających odrębności gatunków bakteryjnych (Winogradski, 1937).

Poglądy te, jako oparte na niedokładnych obserwacjach i błędach metodologicznych, zostały ostro skrytykowane i obecnie mają tylko znaczenie historyczne.

Ich omówienie i rzeczową krytykę znajdzie czytelnik u Winogradskiego (1937), którego praca ukazała się ostatnio po polsku.

Od tego czasu nagromadzono niesłychane bogactwo obserwacji nad zmiennością bakterii. Ten obfity materiał próbowano wielokrotnie ująć w ramy hipotez, często wprost fantastycznych i daleko wychodzących poza

granice zakreślone zbiorem udokumentowanych i sprawdzonych faktów (Almquist 1925, Enderlein 1925, Löhnis 1921, Boszjan 1950, Bieruława 1951, Schanderl 1953).

Do niektórych z tych koncepcji wypadnie nam jeszcze wrócić przy omawianiu pewnych zagadnień (cyklu rozwojowego, form przesączalnych, płciowości). Zostały one poddane krytycznej ocenie w licznych publikacjach (Winogradski 1937, Muromcew 1949, 1954, Zilber 1953, Mamacaszwili 1953, Stapp 1953 i inni) i powtarzanie tej dyskusji byłoby tu niepotrzebną stratą czasu.

Spróbujmy natomiast sprecyzować zasadnicze, kluczowe problemy nauki o zmienności u drobnoustrojów.

Gorąca, wieloletnia dyskusja między pleomorfistami a monomorfistami należy już do przeszłości i, jak słusznie zauważył Winogradski (1937), same terminy: mono- i pleomorfizm są anachronizmem i pozostać powinny jedynie w archiwum historii nauki.

Nie wynika z tego oczywiście, że spory te, u których źródła leżała jednostronna i niedostateczna znajomość faktów, nie odegrały dużej roli w rozwoju mikrobiologii.

Dziś jednak, gdy wielka zmienność drobnoustrojów jest faktem powszechnie znanym, zarówno skrajny monomorfizm, uznający niezmienność formy i własności gatunków bakteryjnych, jak i naiwny pleomorfizm badaczy XIX wieku, starający się wykazać istnienie tylko jednego gatunku zależnie od warunków przyjmującego postać którejkolwiek bakterii chorobotwórczej lub saprofitycznej, przestały być aktualne.

Rozwój nauki polega przede wszystkim nie na rejestracji faktów, lecz na umiejętnym postawieniu odpowiedniego pytania i na wyegzekwowaniu odpowiedzi przyrody.

Wartość tej odpowiedzi będzie zależna od wartości pytania, z jakim zwracamy się do natury. Pytanie musi być konkretne, jednoznacznie sformułowane, musi być sformułowane przy użyciu ścisłych, określonych terminów i nie może dotyczyć zagadnienia abstrakcyjnego.

Uwzględniając powyższe uwagi można by następująco sformułować zasadnicze problemy, jakie należałoby rozpatrzyć przy omawianiu zmienności u bakterii:

1) ustalenie znaczenia używanych pojęć i klasyfikacja zjawisk zmienności,
2) określenie natężenia i stałości zmian,
3) mechanizm zmienności.

W rozdziale II omówione zostanie, jako podstawowe, zagadnienie indywiduum i gatunku u bakterii. Bez wyjaśnienia tej sprawy ogólniejsze ujęcie pozostałych problemów zostałoby uniemożliwione lub okazałoby się niejasne.

Rozdział III zawierać będzie projektowaną klasyfikację zjawisk zmienności ze szczególnym uwzględnieniem zmienności rozwojowej, ontogenetycznej, cyklu rozwojowego oraz zmienności skokowej i kierowanej.

Rozdziały IV – VIII poświęcone są omówieniu poszczególnych rodzajów zmienności oraz krytycznej ocenie hipotez i teorii proponowanych dla wytłumaczenia mechanizmu zmienności.

Dokładniej potraktowane zostało tu zagadnienie form przesączalnych, istotnego sensu tzw. dysocjacji bakteryjnej, enzymów adaptacyjnych.

Najistotniejszy jednak problem — przewijający się poprzez wszystkie dyscypliny biologiczne — problem mechanizmu powstawania i utrwalania nowych cech — stał się obecnie wyjątkowo aktualny właśnie w mikrobiologii.

Lamarckowski pogląd o dziedziczeniu cech nabytych, o kierunkowej indukcji zmienności ściera się tu z zapatrywaniem genetyków na zmienność jako na przypadkowe, bezkierunkowe zmiany genów.

Problem ten zostanie omówiony dokładniej na konkretnych przykładach zmienności, przy czym krytycznemu rozbiorowi zarówno pod względem merytorycznym, jak i metodologicznym zostaną poddane prace eksperymentalne B r a u n a, L e w i s a, D e m e r e c a, D e l b r ü c k a i L u r i i, traktowane w zachodniej literaturze fachowej jako rozstrzygające wspomniane zagadnienie na korzyść tzw. teorii „mutacji spontanicznych".

Treścią rozdziału X będą rozważania na temat płciowego rozmnażania i hybrydyzacji u bakterii; rozdziału IX próba syntetycznego ujęcia mechanizmów zmienności; rozdziału XI — zagadnienie czynników gatunkotwórczych oraz mechanizmu ewolucji u bakterii.

Rozdział II

INDYWIDUUM I GATUNEK U BAKTERII

„Osobnik. I to pojęcie stało się bardzo względne. Kormus, kolonia, tasiemiec — z drugiej zaś strony komórka i metamera jak osobniki w pewnym znaczeniu". „U zwierząt niższych nie podobna ustalić ściśle pojęcia osobnika... również i pod względem tego, gdzie w procesie rozwoju kończy się jeden osobnik, a zaczyna inny".

F. E n g e l s, *Dialektyka przyrody*, s. 220 i 325.

A. OSOBNIK

Podobnie jak u zwierząt niższych, tak i u bakterii „nie podobna ustalić ściśle pojęcia osobnika".

Z drugiej zaś strony istnieje ciągła konieczność operowania tym pojęciem w jakichkolwiek bądź rozważaniach nad zjawiskami zmienności i dziedziczności u bakterii.

Trudność tę, istniejącą zresztą w całej biologii (czytelnik znajdzie obszerniejsze rozważania na ten temat u K o m a r o w a, 1945), starano się przezwyciężyć lub raczej obejść na wiele sposobów.

Przeważnie starano się ściślej określić to pojęcie przez różnicowanie paru rodzajów, typów jednostek.

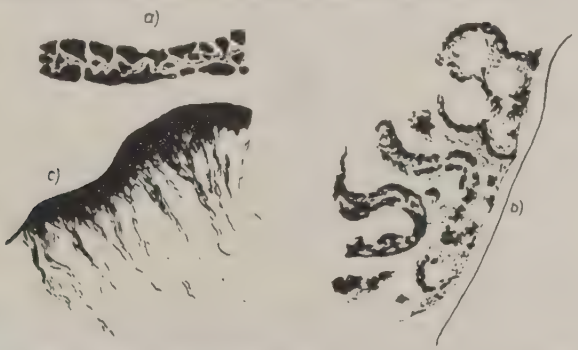
E i s e n b e r g (1913), prócz osobnika I rzędu — komórki bakteryjnej, wyróżniał jako analogon osobnika *Metazoa* osobnika bakteryjnego II rzędu, za który uważał hodowlę od chwili posiewu do momentu załamania się krzywej wzrostu.

Fleck (1931) oraz van Loghem (1937) osobnika II rzędu utożsamiali z klonem bakteryjnym, a więc potomstwem jednej komórki, otrzymanym z niej drogą bezpłciowego rozrodu.

Traktowanie kolonii bakteryjnej, rosnącej w określonej formie na podłożu stałym, jako pewnego rodzaju osobnika, pewnej „biologicznej jednostki" (Knaysi, 1951), podobnie jak organizm tkankowca będącej „zamkniętym układem pozostającym w pewnej równowadze biodynamicznej i wykazującym pewną polaryzację komórek", na ogół rzadziej spotyka się z krytyką.

Nie ulega przynajmniej wątpliwości, że w pewnym zrozumieniu osobnikiem jest „kolonia" bakterii śluzowych, która w określonym momencie rozwoju, uzależnionym od warunków zewnętrznych, wykazuje zsynchronizowany, jednocześnie zachodzący centrypetalny ruch poszczególnych bakterii. Dotychczas niezależne od siebie komórki, tworzące rozpełzający luźny wzrost, zaczynają wędrować i zbierają się w jednym lub paru punktach. Wpełzając na siebie i pnąc się coraz wyżej po znajdujących się już w miejscu „koncentracji" komórkach — tworzą ostatecznie nieraz dość skomplikowane ciało owocowe o formie charakterystycznej dla danego gatunku (Krzemieniewscy 1926, 1928).

Indywidualność kolonii bakterii właściwych jest może nieco mniej wyraźnie zaznaczona. Ale i tu, jak wynika z pracy Legroux i Magrou (1920) nad morfologią i wewnętrzną strukturą kolonii, z obserwacji nad ruchliwymi koloniami (*Bacillus sp.* — Müller 1909, *Bacillus alvei* — Smith i Clark 1938, *B. rotans* — Roberst 1935, Patočka i Šebek 1951), z badań nad *B. mycoides*, tworzącym kolonie lewo- i prawoskrętne (Müller R. 1909, Knaysi 1951), istnieje wewnętrzne zróżnicowanie, a jednocześnie zależność komórek (rys. 3, 4, 5).



Rys. 3 *Mycob. poikilothermorum* Friedmann: a) — przekrój poprzeczny kolonii S., b) — przekrój poprzeczny kolonii R, c) — tworzenie rizoidów w agarze, wg Kořinka 1948.

Przy szerszym rozumieniu pojęcia osobnik, za indywiduum uważać należy również każdą hodowlę bakteryjną, nawet w środowisku płynnym, o ile stanowi tylko układ zamknięty, odznaczający się swoistym, charakterystycznym stosunkiem do otoczenia.

Tak właśnie traktują hodowlę np. Jerusalimski (1953) i Kalina (1949, 1953), gdy mówią o ontogenezie bakterii, tak określają Bisset (1950) i Kunicki-Goldfinger (1951).

Rys. 4 Przekrój kolonii *Vibrio cholerae* wg Legroux i Magrou 1920.

Ryc. 5. Ciała owocowe bakterii śluzowych.
a — *Chondromyces crocatus*, b — *Chondromyces gracilipes*, c — *Chondromyces apiculatus*, z Quehla wg Knaysi'ego 1951

Hodowla taka jest naturalną jednostką wzrostu, wykazującą rozwój i starzenie się, podobnie jak organizm wielokomórkowy. W czasie wzrostu hodowla przechodzi przez pewne stadia i fazy, których następstwo w czasie zależne jest od szeregu czynników środowiskowych, wynikających w dużej mierze ze zmian powodowanych przez sam rozwój drobnoustrojów w układzie zamkniętym.

Dokładniej przemiany te omówione zostaną w rozdziale IV. Tu zaznaczymy, że tego rodzaju typ hodowli zamkniętej spotyka się nie tylko w warunkach laboratoryjnych, w probówce, ale jak słusznie zauważa Jerusalimski (1953) — również i w naturze, szczególnie w glebie. Mia

nowicie bakterie, zaadsorbowane na cząstkach gleby, rozwijają się w izolowanych mikro-niszach ekologicznych, chociaż — trzeba przyznać — bez tej „zegarowej" bez mała regularności, która cechuje hodowle probówkowe. Przyczyną tych odchyleń jest tylko częściowa izolacja mikro-niszy, wskutek czego jest ona układem jedynie częściowo „zamkniętym", pomiędzy którym to układem a otoczeniem istnieje pewna sporadyczna i w różnym nasileniu przebiegająca wymiana substancji odżywczych i produktów metabolizmu organizmów żywych.

P r e l l (1932) zaproponował przyjęcie trzech rzędów jednostek: komórka, łańcuszek lub kolonia, stara kolonia z koloniami wtórnymi.

Tego rodzaju stanowisko wydaje się mało uzasadnione. Łańcuszek jest tworem chwilowym, zależnym od wielu przypadkowych czynników, i w swym stosunku do otoczenia nie różniącym się niczym od poszczególnej komórki bakteryjnej. Stawianie znaku równości między łańcuszkiem a kolonią i uznawanie go za osobnika jest zatem bez wątpienia nieporozumieniem.

Podobnie z nieporozumienia wywodzi się traktowanie jako odrębnego osobnika „starej kolonii z koloniami wtórnymi". Jest to po prostu przechodzenie kolonii w następną fazę rozwojową.

Osobnika w sensie biologicznym możemy scharakteryzować jedynie opierając się na jego stosunku do otoczenia. Dlatego też za *osobniki różnych rzędów można* i, zdaniem moim, należy *uznać pojedynczą bakterię i hodowlę lub kolonię bakteryjną*. Odznaczają się one mianowicie swoistym, w obu przypadkach odmiennym stosunkiem do otoczenia, a jednocześnie obie te kategorie mają wprawdzie nie jednakowo wyrażoną ograniczoność przestrzenną.

Z tego względu również nie znajdziemy zasadniczej różnicy pomiędzy jedno-nukleoidowym osobnikiem a „komórczakiem" i „wielokomórkowym osobnikiem" bakteryjnym, w której to postaci występuje normalnie wiele bakterii (R o b i n o w 1942, 1947; K n a y s i 1951; B i s s e t 1948 a, b, 1950; P i e s z k o w 1938, 1945; K u n i c k i - G o l d f i n g e r, S t a c h a l i U r b a ń s k a 1953).

Rozróżnianie osobnika I rzędu — bakterii „jednokomórkowej" lub „wielokomórkowej", oraz osobnika II rzędu — kolonii lub hodowli okaże się bardzo pomocne, a właściwie niemal niezbędne, dla wyjaśnienia pewnych zjawisk zmienności.

B) GATUNEK

Systematyka bakterii była i jest nadal dziedziną, której botanicy — z wyjątkiem paru wybitnych badaczy XIX wieku — nie poświęcali zbyt wiele uwagi.

Podziały systematyczne bakterii były też przeważnie dziełem mikrobiologów-praktyków. Gatunki, rodzaje, rodziny i rzędy tworzono nie tyle w wyniku dążenia do odzwierciedlenia stosunków filogenetycznych między zbadanymi formami, co w celu rozklasyfikowania materiału w sposób jak najprzydatniejszy dla praktyki mikrobiologii lekarskiej, przemysłowej lub rolniczej.

Sytuacja taka doprowadziła do tego, że zaczęto wysuwać wątpliwości, czy pojęcie gatunku może w ogóle być użyte w odniesieniu do bakterii.

Jest to tym dziwniejsze, że pierwsi mikrobiolodzy-systematycy, jeszcze sprzed ery dominacji bakteriologii lekarskiej, Cohn (1872), De Bary (1887), Winogradski (1888, 1889, 1937) wyraźnie podkreślali istnienie gatunków wśród bakterii.

Zagadnienie wymaga zatem przedyskutowania, a rozważanie należałoby rozpocząć od ustalenia pojęcia gatunku. Potrzeba taka wydaje się tym istotniejsza, że w polskiej literaturze poza artykułem Flecka (1931), nie opublikowanym referatem Eisenberga i tylko częściowo dotyczącą poruszanego tematu publikacją Gieszczykiewicza (1939) problem ten nie był szerzej omawiany.

Przede wszystkim konieczne jest odróżnienie gatunku jako pojęcia taksonomicznego od gatunku w zrozumieniu biologicznym.

Gatunek jako jednostka taksonomiczna ma oczywiście w bakteriologii ten sam sens, co i przy jakiejkolwiek bądź klasyfikacji dowolnych przedmiotów lub zjawisk. Jest po prostu dowolnie przez nas wybranym zbiorem przedmiotów podobnych do siebie ze względu na posiadanie jakiejś wspólnej cechy albo paru cech, nie występujących w przedmiotach należących do innych zbiorów.

Większość tzw. gatunków bakterii odpowiada właśnie takiej taksonomicznej jednostce. Są to twory sztuczne, a znajdujące swe uzasadnienie jedynie w pewnych określonych potrzebach praktycznych.

Tak np. zbiór osobników, zdolnych do wytwarzania toksyny błoniczej, nazywamy gatunkiem *Corynebacterium diphteriae,* mimo że pod względem cech morfologicznych i fizjologicznych jest to zbiór bardzo niejednolity, a co ważniejsze — nie dający się oddzielić ostrą granicą od innych „gatunków" nietoksycznych.

W innym przypadku nie tylko „gatunek", ale cały „rodzaj" — *Erwinia* jest nieodróżnialny od wielu bakterii z grupy *Enterobacteriaceae,* o ile nie uwzględni się jego fitopatogenności, cechy o nieznanej chwiejności i trwałości, a eksperymentalnie trudnej, a nieraz niemożliwej do sprawdzenia.

Tworzenie takich „gatunków" czy „rodzajów" jest w pełni uzasadnione potrzebami praktycznymi. Niestety zapożyczony z botaniki binominalny system nazw zamaskował istotny sens takich jednostek klasyfikacyjnych.

Podkreślenie tej okoliczności jest szczególnie ważne, gdyż w dużej mierze właśnie tu należy szukać źródeł gmatwaniny i chaosu, jaki wciąż jeszcze panuje w nauce o zmienności bakterii, szczególnie w kwestii tzw. przechodzenia gatunków.

Gatunek jednak ma poza tym pewien sens biologiczny. Wprawdzie wielu biologów uważało gatunek za pojęcie czysto umowne, nie mające odbicia w rzeczywistości (Cuvier, Lamarck, Condoll, Sanson, Bailey), jednak dla większości przyrodników gatunek jest czymś rzeczywistym. Nawet Darwin, który pojęcie gatunku uważał formalnie za zupełnie dowolne, operował tym pojęciem tak, iż niewątpliwie rozumiał przez nie coś realnego.

Naturalnie „gatunku", będącego zbiorem osobników, odznaczających się wspólnością cech a nawet pochodzenia, „jako kategorii ściśle określonej w naturze nie ma" (Timiriaziew — wg Komarowa 1945a). Niemniej jednak gatunek jest w pełni rzeczywisty, wprawdzie nie jako zbiór osobników, lecz zjawisko w przestrzeni i w czasie.

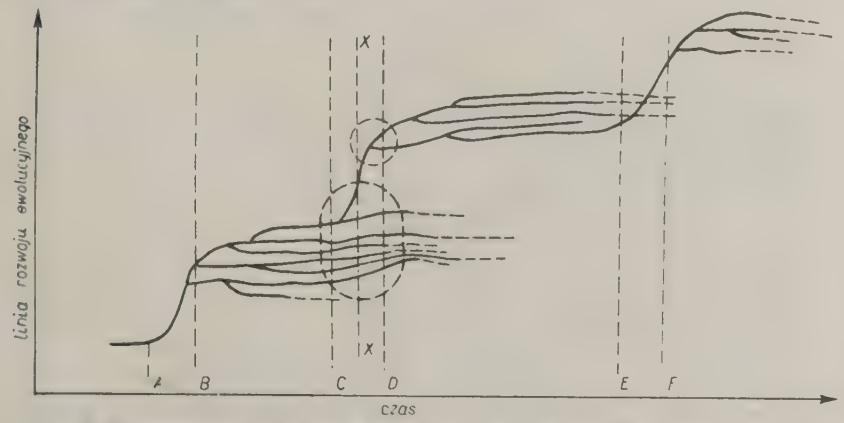
Szkoła darwinistów rosyjskich uważa właśnie, że pojęciu gatunku biologicznego odpowiada zachodzący w naturze proces stawania się (K o m a r o w 1945 a).

Ewolucja materii żywej nie postępuje po jednej linii, lecz zachodzi wielotorowo według wielu typów rozwojowych. Nie przebiega też w sposób równomierny ze stałą szybkością, lecz odbywa się niejako skokowo. W pewnych okresach przemiany są niezwykle gwałtowne, niemal wybuchowe, po czym następują dłuższe okresy względnego spokoju, w czasie których na drodze selekcji i przystosowania dochodzi do ustalenia pewnego typu, obejmującego stosunkowo bliskie sobie formy (K o z ł o w s k i 1951).

Gatunek jest więc zjawiskiem historyczno-biologicznym, obejmującym etap rozwoju mieszczący się pomiędzy dwoma sąsiednimi „skokami", stosunkowo krótkotrwałymi okresami gwałtownych przemian ewolucyjnych.

Obserwowana przez nas różnorodność istot żywych jest „czasowym" przekrojem przez tor rozwojowy. O ile przekrój natrafia na etap „międzyskokowy" danego toru rozwojowego - obserwujemy wielką ilość typów podobnych do siebie, niekiedy połączonych formami pośrednimi, często jednak wskutek zaginięcia tych ostatnich ostro odgraniczonych.

Przekrój toru rozwojowego w czasie „skoku" da nam obraz form bardzo różnych od najbliższych z nimi spokrewnionych o zmienności ciągłej i niezbyt głęboko jeszcze sięgającej.



Rys. 6 Schematyczny tor rozwojowy jakiegoś typu organizmów żywych. Odcinki AB, CD, EF — okresy „skoków" ewolucyjnych. Odcinki BC, DE — okresy powolnego rozwoju i różnicowania form
linia X X' ..... przekrój „czasowy" toru rozwojowego, w którym obserwujemy całą „konstelację" w momencie powolnego różnicowania i formę T_1, (okręg kreskowy), która przez gwałtowny rozwój skokowy, wytwarza typ odrębny.

Zbierane i oznaczane przez nas zwierzęta i rośliny są więc elementami rzeczywiście „zachodzących" gatunków, ale otrzymywany przez nas obraz stoi w takim stosunku do rzeczywistości, jak migawkowe zdjęcia poruszającego się przedmiotu do samego przedmiotu (rys. 6).

Zbyt drobiazgowe omawianie wysuniętej powyżej koncepcji wykracza poza ramy obecnego referatu.

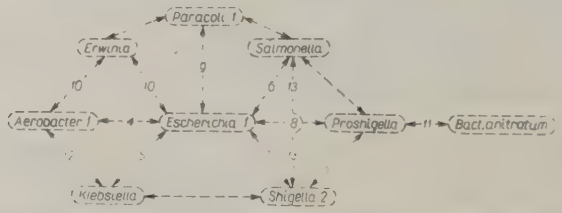
W każdym bądź razie tak pojęty gatunek staje się czymś w pełni realnym, a jego „czasowy" przekrój odbija istniejącą w naturze powtarzalność i zmienność form.

Tego rodzaju ujęcie gatunku jest oczywiście bardzo szerokie, wskutek czego wiele form, traktowanych w klasyfikacji jako odrębne gatunki a nawet rodzaje, znajdzie się w obrębie jednego, tak rozumianego „gatunku".

Zwłaszcza w bakteriologii ujęcie takie wydaje się jednak bardzo celowe.

Tak więc np. bergeyowska „rodzina" *Enterobacteriaceae* obejmuje „rodzaje" i „gatunki", z których można stworzyć szereg ciągły, bez jakichkolwiek bądź ostrych granic pomiędzy formami najbliższymi. W obrębie tej grupy nie tylko można niemal pomiędzy każdymi dwoma, dowolnie dobranymi formami znaleźć formy pośrednie, ale można stwierdzić wzajemne przechodzenie tych form w siebie.

Istnienie licznych form przejściowych w tej grupie podkreślał Rahn (1937), Stuart et al (1943), White (1932 wg Dubos 1947), Dubos (1947) i wielu innych.



Rys. 7 Wzajemne powiązanie niektórych rodzajów z rodziny *Enterobacteriaceae*. Schemat.

Istnienie form pośrednich:

1 — w obrębie grupy *Escherichia, Aerobacter* i *Paracoli*. wg Rahn 1937, Parr 1939, Stuart *et al.* 1943.
2 — „ „ „ *Shigella*: wg Grinbaum 1953, Grinbaum *et al.* 1953, Iwanowej 1953.
3 — „ „ „ *Salmonella:* wg Kauffmann 1949, Bruner 1949, 1953.
4 — pomiędzy *Escherichia* i *Aerobacter:* wg Werkman i Gillen 1932, Tittsler i Sandholzer 1935.
5 — „ „ i *Klebsiella*: wg Henriksen 1953, Kauffmann 1949.
6 — „ „ i *Salmonella*: wg Kauffmann 1949.
7 — „ „ i *Shigella*: wg Kuryłowicz i Ślopek 1947, Seeliger 1951, Grinbaum 1953, Grinbaum *et al* 1953.
8 — „ „ i *Proshigella*: wg Carpenter i Stuart 1950, Stuart *et al* 1943, Ewing 1949, Ewing i Hucks 1950.
9 — „ „ i *Paracoli*: wg Nungester 1938
10 — „ „ i *Erwinia*: wg Elrod 1942.
11 — pomiędzy *Proshigella* i *B.anitratum* Schaub i Hauber (wg Ferguson i Roberts 1950): wg Stuart, Formal i Mc Gawn 1949.
12 — „ *Aerobacter* i *Klebsiella*: wg Osterman i Rettger 1941.
13 — „ *Salmonella* i *Shigella*: wg Iwanowej 1953.

W uproszczony sposób przedstawia to schemat (rys. 7), w którym dla jasności obrazu opuszczono wiele form (np. *Proteus*) i zaznaczono tylko niektóre powiązania, opisane w niewielkiej ilości cytowanych prac, stanowiących zaledwie nikłą część obszernej na ten temat literatury.

Podobnymi „konstelacjami", złożonymi z form pokrewnych połączonych ogniwami pośrednimi, są ziarenkowce (Abd-el-Malik i Gibson 1948) i maczugowce (Brook i Hucker 1948, Jensen 1952, Wood 1949, Kunicki-Goldfinger et al 1954), *Pasteurella* (Pokrowska 1934, Bessonowa et al 1936, Tumanski 1948), *Clostridium* (Sacharow i Gudkowa 1944, Sacharow 1952), paciorkowce (Mellon 1942), mykobakterie pod względem aktywności enzymatycznej (Kwapiński 1948), *Vibrio desulfuricans* (Kluyver i Baars 1932).

Pomnażanie ilości przykładów byłoby zbędne, gdyż już z wyżej przytoczonych wynika, że bakterie tworzą swego rodzaju „rodziny", „konstelacje", wykazujące wewnątrz zmienność ciągłą.

Pomiędzy poszczególnymi „konstelacjami" istnieją natomiast wyraźne różnice jakościowe, wyraźne „skoki". Brak tu na ogół form pośrednich, łączących. W tych nielicznych przypadkach, gdy się na nie natrafia, mogą one stanowić formy ancestralne, pozostałości „skoku", które — jak słusznie zauważa Rahn (1937) — u bakterii mogą nie wymierać.

Przypadki konwergencji, dotyczące podobieństwa lub nawet identyczności jakiejś poszczególnej cechy, np. składu chemicznego substancji otoczkowej u *E. coli* i *S. pneumoniae* (Mørch i Knipschildt 1944), albo też występowania antygenu Forssmanna, absolutnie oczywiście nie podważają słuszności powyższej tezy.

Takie „konstelacje" uważam za „gatunek" bakteryjny w sensie biologicznym. Rzecz jasna, że gatunek taki u bakterii jako zjawisko rozwoju ewolucyjnego jest również rzeczywisty jak w innych grupach istot żywych.

Jest to jakościowo odrębna, wyraźnie odgraniczona od innych współprzebiegających typów rozwojowych, forma rozwoju materii żywej, która powstała z poprzedniej formy drogą „skoku" ewolucyjnego.

Taki „gatunek — konstelacja" jest nieco zbliżony do pojęcia *„super species"* (*„species lata"*) Huxleya (1949) lub „Grossart" Eisenberga (1911).

Świadczy o tym poniższy cytat z pracy Eisenberga: „Dass aber die Kleinarten auf diese Weise entstehen können resp. ineinander umwandelbar sind, glaube ich nach dem vorliegendem Material annehmen zu dürfen... Die Erkentniss von der Variabilität und Plastizität der Kleinarten wird uns mit der Zeit dazu verhelfen, die Grossart besser und genauer in ihrem inneren Aufbau kennen zu lernem... für die Grossart der Variatonsbereich und die Variationsformen mancher Merkmale ebenso charakteristisch sein können, als die Stabilität anderen".

Ustalenie zakresu pojęcia „gatunek" będzie nam pomocne, zarówno w późniejszych rozważaniach nad zmiennością gatunków, jak i nad procesami gatunko-twórczymi.

Wprawdzie już Cohn (1872) opierając swą systematykę przede wszystkim na cechach morfologicznych uważał ją za w zasadzie naturalną. W związku z tym pisał: „so glaube ich doch die von mir aufgestellten systematischen Abteilungen im Wesentlichen als natürliche ansprechen zu müssen".

Jednak wielu badaczy (np. Fleck 1931) stawia przed systematyką bakterii jedynie cele praktyczne.

Stanowisko takie wynika z trudności znalezienia cech swoistych, na których można by było oprzeć podział systematyczny i wnioski co do pokrewieństwa pomiędzy poszczególnymi grupami.

Rzeczywiście, wskutek ubóstwa form morfologicznych u bakterii, na których opierano pierwsze systemy bakteryjne (Cohn, Migula), oraz zmienności i różnorodności typów fizjologicznych, które starano się również wyzyskać dla potrzeb systematyki (Hallier 1872 - wg Flecka 1931, Orla-Jensen 1921), zadanie stworzenia naturalnego systemu bakterii zdawało się niemożliwe.

Własności serologiczne, pozwalające na bardzo precyzyjne różnicowanie form bakteryjnych, wydawały się też mało przydatne (Fleck 1931), z uwagi na wielość antygenów bakteryjnych i częste przypadki konwergencji.

Niemniej jednak cechy morfologiczne umożliwiają wyróżnienie pewnych zasadniczych typów budowy. W połączeniu z badaniem cech fizjologicznych, nie ograniczonym do prostego badania, np. hydrolizowania jakiegoś związku organicznego, ale mającym na celu określenie typu przemian biochemicznych zarówno katabolicznych, jak i anabolicznych, metoda morfologiczno-fizjologiczna może dać dalsze naturalne usystematyzowanie materiału (Błagowieszczenski 1950).

Również i badania serologiczne, nie ograniczające się jednak do antygenów powierzchniowych, ale dotyczące kompleksów głębiej położonych (np. białkowy głęboki antygen Q u *Enterobacteriaceae* — Dubos 1947, antygen nukleoproteidowy u paciorkowców Wilson i Miles 1946), pozwalają stwierdzić pewne stosunki pokrewieństwa wśród bakterii, podobnie jak wśród roślin wyższych (Sarl Mez 1924).

O odrębności i pokrewieństwie gatunków świadczyć też może przebieg cyklu rozwojowego.

Po raz pierwszy wyraźnie sformułował potrzebę badań rozwojowych de Bary (1887), pisząc:

„Die Species werden unterschieden nach dem Entwicklungsgang. Die Gesamtheit der Einzelwesen und Generationen, welche während der zu Gebote stehenden Beobachtungszeit dengleichen, periodisch wiederholten Entwicklungsgang — innerhalb empirisch bestimmter Variationsgrenzen — zeigen, nennt man Species".

Podobne stanowisko zajął jego uczeń Winogradski (1888, 1889, 1937).

Cykl rozwojowy służy również do określenia gatunku u Haaga wg Fleck (1931), Hadleya (1937), Mellona (1942), Dienesa (1946).

Bisset (1950) za podstawę systematyki uznaje obok cyklu rozwojowego i morfologii cytologię bakterii.

Na konieczność uwzględnienia ekologii drobnoustrojów w badaniach systematycznych zwrócił uwagę Winogradski (1949), Sacharow (1952), Muromcew (1953), a przede wszystkim Miszustin (1948, 1950, 1954). Wyróżnił on rasy ekologiczne *B. mycoides*, różniące się optymalnymi temperaturami i szybkością wzrostu. Wykazał też, że w obrębie grupy *Bacillus* występowanie poszczególnych typów uwarunkowane jest ekologicznie: w nie uprawianych glebach tundry znajduje się prawie

wyłącznie *B. agglomeratus* i *B. asterosporus*, w tajdze — przede wszystkim *B. cereus*, w stepie południowym — *B. idosus* i *B. magatherium* itd.

Proponowane na przykład przez Muromcewa (1953) włączenie do określenia gatunku jako jego zasadniczej właściwości braku antagonizmu pomiędzy odmianami czy rasami wydaje się nieuzasadnione.

Nie jest moim zadaniem dyskutowanie tu o zagadnieniu wewnątrzgatunkowej walki o byt jako o problemie ogólnobiologicznym. W mikrobiologii jednak antogonizm i konkurencja wewnątrzgatunkowa są faktami dowiedzionymi, czego przykładem może być antagonistyczne oddziaływanie pewnych szczepów *Escherichia coli* na inne szczepy tego samego gatunku za pomocą swoistego antybiotyku - kolicyny lub podobny przypadek u pałeczkowców (antybiotyk nizyna).

Traktowanie antagonistycznych szczepów jako odrębne „gatunki" doprowadziłoby do utworzenia olbrzymiej ilości nowych jednostek systematycznych, co jak uważa sam Muromcew, byłoby niesłuszne, a nawet szkodliwe.

Dla określenia gatunku lub niższej jednostki klasyfikacyjnej i wyznaczenia jej miejsca w systemie okazało się konieczne poznanie całokształtu cech bakterii: morfologicznych, cytologicznych, fizjologicznych, serologicznych, ekologicznych, ontogenezy i zmienności danej formy.

Niedalecy zrozumienia tego byli Rahn (1937, 1939) i Kursanow (1945). Z tej pozycji poddali krytyce systematykę Bergeya-Van Niel (1946), Cowan (1948) i Wood (1949).

Dzięki temu stały się realne próby stworzenia naturalnego systemu, opartego o filogenezę bakterii (Kluyver i Van Niel 1936, Stanier i Van Niel 1941, Breed 1941, Breed et al 1949, Krasilnikow 1948, 1949).

Zrozumiałe, że system taki jest jeszcze daleki od doskonałości i w dużej mierze dowolny.

Bakteriologowi brak tak poważnego oparcia, jakie znajduje botanik lub zoolog w paleobiologii.

Nieliczne doniesienia (np. Renault 1896) o bakteriach kopalnych są zbyt słabo udokumentowane, aby można je było w tym celu wykorzystać.

Bakteriolog rozporządza natomiast metodą mało dostępną biologom, metodą eksperymentalnej zmienności, dzięki czemu o wiele łatwiej jest badać mikroewolucję u bakterii niż u roślin lub zwierząt.

Słuszność tego poglądu wyniknie z dalszych rozdziałów referatu, poświęconych mechanizmowi zmienności i procesom gatunkotwórczym.

Mimo więc ograniczeń i wad proponowane systemy naturalne są o wiele doskonalsze i realniejsze, niż rozdrabniająca poszczególne typy bakterii na niezliczone drobne rodziny, rodzaje i gatunki klasyfikacja bergeyowska lub liczbowe, mechaniczne klucze (Omelianski 1940, Skerman 1949).

Ze względu na potrzeby praktyczne, wysuwane przez bakteriologię lekarską, przemysłową i rolniczą, konieczne będzie nieraz wyróżnianie nawet oddzielnych szczepów, różniących się tylko jedną, pożyteczną lub szkodliwą z punktu widzenia człowieka, cechą.

Ilość używanych nazw i oznaczeń będzie się zatem wciąż mnożyła. Nie powinno to nas jednak napawać obawą — liczba do dziś scharakteryzowanych jednostek klasyfikacyjnych wśród bakterii jest znikoma w porównaniu z 815 000 znanych „gatunków" stawonogów (Dementiew 1947).

Niekiedy może się okazać celowe zachowanie dwu odrębnych oznaczeń dla form będących w rzeczywistości dwoma fazami rozwojowymi lub dwoma odmianami tej samej formy.

Podobna sytuacja istnieje obecnie w mykologii, gdzie stadium seksualne nosi inną nazwę niż aseksualne tego samego organizmu (np. *Uncinula necator* i *Oidium tuckeri*) lub też dwie przechodzące w siebie formy figurują pod innymi nazwami rodzajowymi (np. *Stemphylium* i *Alternaria* — Ramsbottom 1949).

Istotne jest tylko, aby duża ilość nazw i oznaczeń nie przysłaniała nam tego faktu, że w naturze „gatunek" bakteryjny jest pojęciem bardzo szerokim, a liczne drobne jednostki taksonomiczne są w rzeczywistości nieraz słabo utrwalonymi odmianami wewnątrzgatunkowymi.

Zrozumialsza stanie się wówczas zarówno kwestia „przemiany gatunków", powstawania gatunków, jak i filogenezy bakterii.

Rozdział III

KLASYFIKACJA ZJAWISK ZMIENNOŚCI

„When I make a word do a lot of work like that, I always pay it extra"[1].

Lewis Caroll

Usystematyzowanie przedmiotów i zjawisk według pewnej ogólnej zasady, będąc zawsze grubym uproszczeniem i schematyzacją natury, jest jednak koniecznym etapem wstępnym w każdej gałęzi nauki.

Zapobiega ono zagubieniu się w gąszczu faktów, ułatwia wykrycie wzajemnych ich powiązań.

Toteż od dawna starano się poklasyfikować zjawiska zmienności bakteryjnej w sposób najmniej odkształcający obraz natury. Posługiwano się przy tym przeważnie pojęciami zapożyczonymi z nauki o zmienności organizmów wyższych.

Beijerinck (1912) dzielił zjawiska zmienności bakteryjnej na: 1) mutacje — skokowe, dziedzicznie ustalone zmiany, 2) modyfikacje — nie dziedziczące się zmiany powstające pod wpływem zadziałania czynników środowiskowych, 3) fluktuacje — zmiany ciągłe, zachodzące w obrębie populacji i 4) kombinacje — zmiany powodowane przez hybrydyzację.

Podobne stanowisko zajął Toenissen (1914), wyróżniając mutacje, modyfikacje i fluktuacje. Później autor ten wyróżnił jeszcze czwartą kategorię zmienności, wynikającej ze zmiany dominacji w zrozumieniu mendlowskim.

Dobell (1913) za mutację uważał każdą dziedzicznie przekazywaną skokową zmianę.

Eisenberg (1913), biorąc pod uwagę swoisty charakter zmienności bakterii (brak płciowości, zmienność rozwojową w obrębie hodowli, dużą

[1] „Gdy zmuszam słowo do wykonania tak olbrzymiej pracy jak ta, płacę mu zawsze extra".

plastyczność bakterii), doszedł do wniosku, że ostre rozgraniczenie mutacji w sensie de Vriesowskim i modyfikacji jest niemożliwe. U bakterii według Eisenberga stwierdza się raczej różne stopnie dziedzicznego ustalenia cech niż wyraźny rozdział na cechy dziedziczne i przemijające.

Różny stopień dziedzicznego ustalenia cech u drobnoustrojów znalazł również swe odbicie w pojęciu „Dauer-modyfikacji" Jollosa (1913, 1921, 1934) dla zjawisk, które nie dawały się podciągnąć ani pod pojęcie mutacji ani modyfikacji.

Koncepcje Jollosa przeniósł na teren bakteriologii w prawie nie zmienionej postaci Koblmüller (1937), nadając pojęciu tylko inną nazwę („Spurigkeit" lub „Signanz" fenotypu).

Stewart (1926 a, b) starał się znane zjawiska dziedzicznie ustalonej zmienności zaszeregować do jednej z trzech kategorii: mutacji, segregacji mendlowskiej (nawet przy podziałach somatycznych) i zmian dominacji.

Przegląd starszej literatury na ten temat znajdzie czytelnik u Eisenberga (1914), Baerthleina (1923), Gottschliecha (1929).

Fleck i Elster (1932), według których pojęcia zmienności i dziedziczności u bakterii wskutek braku rozrodu płciowego i niemożności odróżnienia geno- i fenotypu tracą swój ogólnie przyjęty sens, dzielą zmienność na wielopostaciowość: 1) patologiczną, 2) cykliczną, 3) warunkowo-konstytucyjną, oscylującą, 4) rozwojową i 5) ekologiczną.

Ujęcie takie, kładące nacisk na procesy rozwoju i na stosunek organizmu do środowiska, było wówczas niewątpliwie dużym postępem w stosunku do sztywnych, „szufladkowych" schematów dawniejszych badaczy.

Nieco zbliżony pogląd wypowiedział Van Loghem (1937), wyróżniając obok genotypowej mutacji fizjologiczne i patologiczne zmiany wzrostowe i nadając im różne nazwy: adaptat (przejściowa modyfikacja adaptacyjna), fixat (ustalona modyfikacja adaptacyjna), atrofant (modyfikacja polegającą na zaniku jakiejś cechy), mutilant (ustalona modyfikacja wynikająca z uszkodzenia, okaleczenia), degenerant (modyfikacja, która uwidacznia się w pojawieniu się nowej czynności o charakterze patologicznym).

Wilson i Miles (1946) wprowadzili termin „skorelowanych wariacji" na określenie tzw. dysocjacji bakteryjnych oraz „wymuszonych" (impressed) wariacji, o różnym stopniu ustalenia dziedzicznego.

Badacze radzieccy (np. Krasilnikow 1954, Gamaleja 1951) wyróżniają heteromorfizm (dla określenia tzw. dysocjacji) jako swoisty sposób reagowania bakterii na zmiany środowiskowe oraz dziedzicznie przekazywane progresywne lub regresywne zmiany, również powstające pod wpływem czynników zewnętrznych.

Określenie jakiejś zmiany jego progresywnej lub regresywnej wymaga jednak dużej ostrożności.

Tak np. utrata pewnych cech i czynności u bakterii pasożytniczej, prowadząca do uproszczenia budowy i metabolizmu, może jednocześnie warunkować lepsze przystosowanie do rozwoju w specyficznym środowisku. Uproszczenie takie nie będzie wówczas uwstecznieniem (retrogresją), lecz przeciwnie — przejawem rozwoju progresywnego, prowadzącego do lepszego opanowania środowiska i do zachowania gatunku.

U podstaw niemal wszystkich cytowanych powyżej podziałów leży po-

gląd, według którego zmienność ustalona dziedzicznie ma zupełnie inny mechanizm niż zmienność nie ustalona, przemijająca.

Tego rodzaju zapatrywanie opiera się jednak nie na analizie dostępnego materiału obserwacyjnego i wyników doświadczeń, lecz wynika z pewnych *a priori* przyjętych założeń, zaczerpniętych z nauki o dziedziczności u organizmów wyższych, bez należytego uwzględnienia odrębności bakterii.

Jednym z głównych mechanizmów, za pomocą których bakteria opanowuje wciąż zmienne środowisko zewnętrzne, jest — jak już wspomniano w rozdziale I — olbrzymia jej plastyczność. Jednak mimo plastyczności, łatwości, z jaką cechy bakterii podlegają odkształceniom, pewne formy bakteryjne są stosunkowo trwale ustalone. Fakt ten stał się swego czasu główną przesłanką, na której oparli się skrajni monomorfiści.

Ta względna stałość form możliwa jest tylko dlatego, że plastyczności bakterii towarzyszy ich elastyczność. Pewne zmiany, odkształcenia wywołane przez zadziałanie czynników środowiskowych, są w szerokich granicach odwracalne.

Bardziej zrozumiałym uczyni to poniższe upraszczające porównanie. Wyobraźmy sobie dwie kule — kauczukową i metalową — obie zawierające wewnątrz wiele mniejszych kulek kauczukowych.

Każdy nacisk na kulę kauczukową, nawet stosunkowo słaby, wywoła odkształcenie jej postaci i przemieszczenie oraz pewne odkształcenie kulek wewnętrznych. O ile tylko nacisk wywierany nie jest zbyt silny lub zbyt długotrwały, po jego ustąpieniu zarówno kula kauczukowa, jak i kulki wewnętrzne wrócą dzięki swej elastyczności do postaci pierwotnej.

Kula metalowa ulegnie w tych warunkach innym zmianom. Słaby nacisk nie wywrze na nią ani na kulki wewnętrzne żadnego wpływu. Silniejszy spowoduje bardzo małe, odwracalne, elastyczne odkształcenie kuli stalowej bez widocznego naruszenia układu kulek wewnętrznych. Nacisk bardzo silny spowoduje wyraźne odkształcenie kuli metalowej i przemieszczenie oraz odkształcenie kulek wewnętrznych, lecz zmiana ta tym razem będzie zaledwie częściowo odwracalna. Odkształcenie zostanie ustalone.

Bakteria, narażona na ciągłe oddziaływania przenikających do wnętrza organizmu czynników, zachowuje się jak kula kauczukowa, jej wewnętrzne struktury — jak wewnętrzne kulki kauczukowe.

Zwierzę wyższe posiada pancerz, którym są mechanizmy regulujące, izolujące w dużej mierze organizm od środowiska zewnętrznego. Słabsze czynniki, podobnie jak słaby nacisk na kulę metalową, nie powodują żadnego widocznego odkształcenia lub też tylko nikłą odwracalną zmianę, dotyczącą przede wszystkim samych mechanizmów regulacyjnych i buforujących.

Organizm wyższy podobny jest pod tym względem do kuli metalowej o stosunkowo znacznie mniejszej plastyczności i elastyczności, a dużej izolacji środowiska wewnętrznego.

Porównanie to jest oczywiście karykaturalnym uproszczeniem zjawiska, ale jak każda karykatura służy jedynie jako środek dla podkreślenia tych cech zjawiska, które uważamy w danym momencie za najistotniejsze.

W konkretnym wypadku istotna jest plastyczność i elastyczność organizmu bakteryjnego i te cechy należy wziąć pod uwagę przy podziale zjawisk zmienności.

Rodzajem zmienności, w którym odbija się najlepiej zarówno plastyczność, jak i elastyczność bakterii — jest zmienność przystosowawczo-rozwojowa.

Pod pojęciem zmienności przystosowawczo-rozwojowej rozumiem skorelowaną, odwracalną zmienność wielu cech, występującą w czasie rozwoju bakterii w środowisku zmieniającym się.

Tu zaliczam zmienność formy i własności, stwierdzaną w czasie wzrostu kolonii lub hodowli bakteryjnej, nazywaną niekiedy *cytomorfozą*.

Zmienność skorelowana wielu cech, wywołana przez głębiej sięgające zmiany środowiskowe, które uprzednio doprowadziły już do zakończenia lub przerwania normalnego cyklu wzrostowego hodowli, drugi rodzaj zmienności przystosowawczo-rozwojowej, nazywa się niekiedy *heteromorfozą* (G a m a l e j a 1951), dysocjacją (H a d l e y 1927, 1937), skorelowaną, „narzuconą" wariacją (W i l s o n i M i l e s 1946), rozwojem stadialnym (J e r u s a l i m s k i 1953).

Do tej kategorii należeć będą też tzw. „formy reaktywne" badaczy radzieckich, postać **L** oraz przesączalne i awizualne formy bakterii.

Drugą grupę zjawisk zmienności określimy jako zmienność modyfikacyjną. Dotyczy ona zwykle jednej cechy, a nawet wówczas, gdy obejmuje ich parę, nie wykazuje skorelowanej zmienności określonej grupy cech, lecz przypadkowy i zmienny ich zbiór.

Tu zaszeregujemy modyfikacje nietrwałe, zarówno kierunkowe (np. enzymy adaptacyjne), jak i bezkierunkowe (np. czasowa utrata zdolności do wytwarzania pigmentu pod wpływem hodowli w wyższej ciepłocie lub na świetle).

Grupa ta, poprzez szereg przejść — modyfikacji o coraz silniejszym ustaleniu dziedzicznym, łączy się z następnym typem zmienności, odznaczającej się wyraźnym, choć nie bezwzględnym ustaleniem dziedzicznym.

W typie tym wyróżnić trzeba modyfikacje dziedziczne, powstające stopniowo, drogą sumowania małych zmian, oraz mutacje — zmiany skokowe, indukowane przez zadziałanie środowiska zewnętrznego lub wewnętrznego, kierunkowe lub bezkierunkowe.

Wszystkie te zmiany polegać mogą zarówno na pojawieniu się nowej cechy, jak i na utracie dawniej posiadanej, co nie wyklucza ich progresywnego charakteru, gdyż i zanik, i pojawienie się właściwości może być przejawem ewolucji.

Dalszą kategorią będą mutilacje - zmiany wynikające z okaleczenia organizmu, zniszczenia jakiegoś elementu przez specjalnie silnie działające czynniki (promienie Roentgena, promienie gamma, pozafiołkowe, iperyt itp.).

Ostatnią grupę stanowić będą zjawiska zmienności wynikające z hybrydyzacji (transformacje, krzyżowanie).

W podziale tym zabrakło miejsca dla zjawisk określanych jako zmienność patologiczna, degeneracyjna, involucyjna.

Jest to całkiem zrozumiałe, gdyż o tego rodzaju zmienności, o ile wyłączymy mutilacje, nic konkretnego nie można powiedzieć. O ile za proces patologiczny będziemy uważali u bakterii, podobnie jak u organizmu wyższego, każde, nawet odwracalne, głębsze zakłócenie normalnego przebiegu

funkcji życiowych, wówczas dojdziemy do paradoksalnego wniosku, że u bakterii właściwie są jedynie procesy patologiczne. Nie będziemy zatem mogli odróżnić procesu patologicznego od zjawisk zmienności.

Określenie tego, co uważamy za „normalny stan" bakterii, jest niemal niemożliwe. Nie jest nim stan, w którym bakteria najintensywniej się rozmnaża i wzrasta, jak to słusznie wiele razy podkreślał Winogradski (1889, 1937). Nie jest nim również największa aktywność fizjologiczna bakterii, przebiegająca w kierunku dla człowieka ważnym; tworzenie jadu przez maczugowiec błonicy jest związane z zakażeniem bakterii przez faga, wiązanie azotu cząsteczkowego przez *Rhizobium* łączy się z wewnątrzkomórkowym pasożytnictwem bakterii, która rozmnaża się wówczas o wiele słabiej niż w optymalnych warunkach poza rośliną-gospodarzem.

Trudno uważać za normalną tę postać, która występuje w „normalnym" dla danej bakterii środowisku biotopie, gdyż bakterie są „wielośrodowiskowe", a przyjmowanie innej, zmienionej postaci w „nienormalnym środowisku" służy zachowaniu gatunku, nie może być więc traktowane jako proces chorobowy, degeneracyjny.

Zmiany, które bez wahania możemy określić jako patologiczne, degeneracyjne, prowadzą do nekrobiozy, do śmierci. Jako takie nie są w ogóle przejawem zmienności.

Należy jednak o możliwości takich zmian pamiętać i umieć je odróżniać od przejawów zmienności.

Podziału powyższego dokonano, poza wydzieleniem zmienności hybrydyzacyjnej, bez nawiązywania do zagadnienia mechanizmu zmienności.

Problem ten będzie bliżej omawiany w rozdziale IX, tu wystarczy tylko zaznaczyć, że nie ma żadnych podstaw do rozdzielania zmienności na indukowaną i nie indukowaną, gdyż *każda zmienność jest indukowana, a różny może być tylko mechanizm indukcji i natura czynników działających.*

Reasumując: zjawiska zmienności u bakterii dzielimy na następujące grupy:

I. Zmienność przystosowawczo-rozwojowa:

1) cytomorfoza; 2) heteromorfoza (dysocjacja) wraz z formami L i przesączalnymi.

II. Zmienność modyfikacyjna:

1) modyfikacje nietrwałe i częściowo ustalone — a) kierunkowe, b) bezkierunkowe.

2) odmiany ustalone dziedzicznie — a) modyfikacje dziedziczne, kierunkowe i bezkierunkowe, b) mutacje kierunkowe i bezkierunkowe.

III. Mutilacje.

IV. Zmienność wynikająca z hybrydyzacji.

Podział ten jest, jak i każdy inny, sztuczny i upraszcza różnorodność zjawisk życiowych. W rzeczywistości poszczególne rodzaje zmienności nie są ostro odgraniczone, a często spotykamy zjawiska, które należałoby podciągnąć pod dwie kategorie jednocześnie.

Mimo to sądzę, że jest on najnaturalniejszy i że najlepiej odbija zasadniczą właściwość bakterii — ich plastyczność i elastyczność.

Rozdział IV

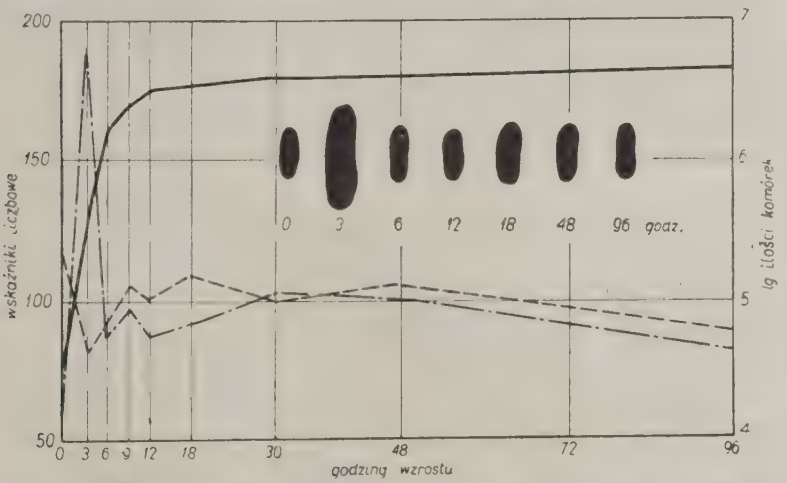
ZMIENNOŚĆ ROZWOJOWO-PRZYSTOSOWAWCZA

„The time of a cell and a time of a clock are different, as different as the structure of the system „cell-medium" is from that of the solar system"[2].

Carrel A. (1935): *Man the Unknown*

A. CYTOMORFOZA

Hodowla bakteryjna, osobnik II rzędu, ma swój własny rozwój zaczynający się okresem „embrionalnym", przygotowawczym, w którym następuje gromadzenie białek i kwasów nukleinowych w komórce (tzw. faza zastoju — „lag-phase"). Z kolei następuje okres maksymalnej aktywności fizjologicznej i okres szybkiego wzrostu (faza logarytmiczna), by ustąpić z czasem miejsca okresowi dojrzałości (faza ustalenia — stacjonarna), a wreszcie starzeniu się (faza zamierania) (rys. 8).



Rys. 8 Krzywa wzrostu *E. coli* i zmienność kształtu i wielkości komórek bakterii w czasie rozwoju.
— logarytm ilości bakterii w 1 ml
- - - - wskaźnik $\frac{\text{powierzchnia}}{\text{długość}}$ komórki bakterii określający formę komórki
-·-·-·- przeciętna długość komórki bakteryjnej (w skali względnej),
wg Henrici 1928

Regularność następstwa kolejnych faz — okresów rozwojowych kultury jest duża i charakterystyczna dla danego gatunku i określonych warunków hodowli (rys. 8).

[2] „Czas komórki różni się tak od czasu mierzonego zegarami jak różni się struktura układu „komórka — środowisko" od budowy systemu słonecznego"

Skłoniło to niektórych badaczy (J e r u s a l i m s k i 1952, B i s s e t 1950) do przyrównania rozwoju hodowli do rozwoju ontogenetycznego organizmów wyższych. Do zagadnienia tego powrócimy jeszcze po zaznajomieniu się ze zjawiskiem dysocjacji — pod koniec tego rozdziału.

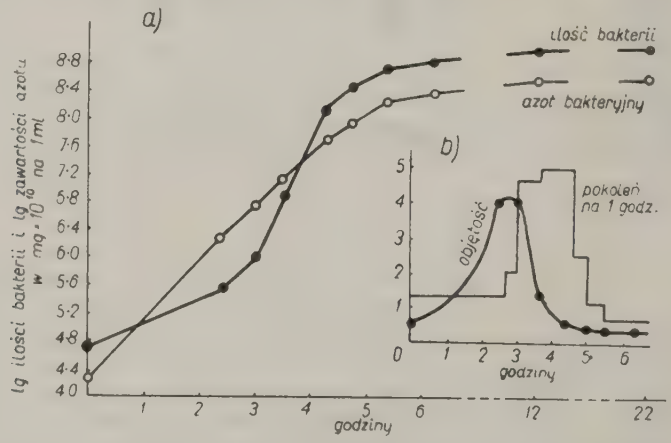
W czasie rozwoju hodowli zachodzą pewne charakterystyczne zmiany w budowie i własnościach bakterii.

Problem ten stał się przedmiotem zainteresowań wielu badaczy. Najobszerniej opracował to zagadnienie H e n r i c i (1928).

Zmianom podlega wielkość i forma ciała bakterii (H e n r i c i 1928, W i n s l o w i W a l k e r wg P o r t e r 1947, B e n i g n o i B e r t i 1953), przy czym największe rozmiary osiąga komórka znajdująca się pod koniec fazy zastoju i w początkowym okresie fazy logarytmicznej (rys. 8, 9 b, tabl. I, fot. 1 i 2).

Późniejsze zmniejszenie rozmiarów wynika z szybkich podziałów komórek i może niekiedy być bardzo znaczne. H e n r i c i stwierdził np., że długość laseczki *B. megatherium* spada z 20 μ w 5—6 godzinie wzrostu do 4,0 μ w 9-godzinnej hodowli.

Zmniejszenie komórek, powodowane przez ich szybkie rozmnażanie się, należy odróżnić od przemiany w formy skrócone, ziarenkowate, powstające wskutek fragmentacji „wielokomórkowego" ciała bakterii, np. u *Propionibacterium, Mycobacterium, Corynebacterium* (K u n i c k i - G o l d f i n g e r et al. 1953 a, B i s s e t 1951, 1952, B i s s e t i M o o r e 1949) lub niekiedy u *Clostridium* (W i n o g r a d s k i 1902, G a r b o w s k i 1907/8).



Rys. 9a Przyrost ilości bakterii i azotu bakteryjnego

Rys. 9b Zmiany objętości komórki, wyrażone w ilości azotu w mg przypadającej na 1 komórkę pomnożonej przez 10^{10}, wg H e r s h e y 1938.

Faza zastoju (lag-phase), w której komórki nie dzielą się lub dzielą się bardzo wolno, nie jest jednak okresem zastoju w sensie fizjologicznym. Przyrost żywej masy bakterii przebiega w tym okresie z tym samym natężeniem, co i w następnej fazie logarytmicznej (rys. 9 a).

Doprowadza to do dużej kumulacji białek i kwasów nukleinowych, których zawartość osiąga maksimum w okresie fizjologicznej młodości hodowli (Malmgren i Heden 1947 a, b).

Tym zmianom formy i składu chemicznego towarzyszą zmiany zawartości i aktywności enzymów, barwliwości, wrażliwości na czynniki fizyczne i chemiczne (Henrici 1928, White 1951, Stephenson 1949, Porter 1947), budowy cytologicznej (Pieszkow 1946, Klieneberger-Nobel 1945).

Takim przebiegiem odznacza się to zjawisko u gramujemnych nie zarodnikujących pałeczek.

Zmienność tego typu jest do pewnego stopnia cykliczna, w tym sensie, że kolejność faz powtarza się po przeniesieniu do nowego środowiska.

Według Bisseta (1950) cykl taki rozpoczyna się od tzw. „komórki spoczynkowej", będącej odpowiednikiem mikrocysty bakterii śluzowych, kończy się autogamicznym procesem płciowym dającym w wyniku znów „komórkę spoczynkową".

Zapatrywania Bisseta oparte są wyłącznie na wynikach badań cytologicznych, a interpretacja tego rodzaju wyników jest bardzo trudna. Z tego też powodu do poglądu powyższego należy ustosunkować się z rezerwą.

Bliżej kwestia autogamii u bakterii omówiona jest w rozdziale X.

Bisset wprowadzając pojęcie komórki spoczynkowej starał się znaleźć analogię pomiędzy cyklem rozwojowym hodowli bakterii nie zarodnikujących, a cyklem charakterystycznym dla zarodnikujących rodzajów (*Bacillus* i *Clostridium*).

U tych ostatnich w miarę „starzenia się" hodowli bakterie wytwarzają stadium spoczynkowe, przetrwalne — zarodniki wewnątrzkomórkowe.

Zarodniki te są wytwarzane tylko z części cytoplastu i jedynie część substancji chromatynowej bierze udział w ich powstawaniu (Badian 1930—36, Klieneberger-Nobel). Godne podkreślenia jest także to, że zarodniki pod względem budowy antygenowej różnią się od form wegetatywnych (Lamanna 1940, Mellon i Anderson 1919), podczas gdy mikrocysta jest pod tym względem identyczna z postacią wegetatywną.

Istota zarodnika i jego rola są zatem inne i nie powinno się go przyrównywać do mikrocysty.

Odmiennie również przebiega cykl rozwojowy u maczugowców, mykobakterii i *Proactinomyces*. Jak już wspomniano, mają one ciało wieloczłonowe, „wielokomórkowe" (tabl. I, fot. 3 i 4), rozpadające się w starych kulturach na ziarenkowate, jednonukleoidowe komórki.

Proces ten przypomina obserwowane u pokrewnych im *Streptomyces* wytwarzanie zarodników konidialnych w drodze fragmentacji wielonukleoidowej nitki. *Streptomyces* zresztą prawdopodobnie wywodzą się od *Proactinomyces*, a te od dyfteroidów (Kunicki-Goldfinger et al. 1954), a mechanizm wytwarzania konidii powstał w rozwoju ewolucyjnym z prostego zjawiska fragmentacji.

Rozwój hodowli *Myxobacteriales* przebiega zupełnie swoiście. Cykl rozwojowy kończy się powstawaniem przetrwalnikowych mikrocyst, często poprzedzanym wytwarzaniem ciał owocowych, będących, jak już zaznaczo-

no, wyrazem pewnego wzajemnego zestrojenia, współdziałania poszczególnych komórek.

Przypuszczalnie wśród bakterii istnieje o wiele większa różnorodność w przebiegu cyklów rozwojowych kultur. Wskazują na to, poza licznymi dawniejszymi doniesieniami, których wartość dokumentarną obecnie często trudno określić (np. Allen, Appleby i Wolff 1939, Jones 1920), ostatnio wykonane za pomocą nowoczesnych metod obserwacje Eisenstarka et al. (1950 a) oraz Pochon, Tchan i Wang (1948) nad przemianami rozwojowymi azotobaktera i Bisseta (1952) nad *Rhizobium*.

Nie wspominamy tu cyklów rozwojowych bakterii nitkowatych i niektórych bakterii siarkowych, gdyż ich stosunek pokrewieństwa z pozostałymi bakteriami jest niejasny.

Przemiany, jakim podlegają komórki w czasie wzrostu hodowli, są wynikiem oddziaływania stale, kierunkowo zmieniających się warunków środowiskowych. Z drugiej strony zmiany warunków środowiskowych są powodowane przez oddziaływanie bakterii na środowisko (zmniejszanie się ilości substancji odżywczych i wzrostowych, zmiana stężenia jonów wodorowych, zmiany potencjału oksydo-redukcyjnego, gromadzenie produktów metabolizmu i wydalin komórkowych itp.).

O tym, że tak jest w istocie, przekonują nas doświadczenia nad wzrostem hodowli, przeprowadzane za pomocą urządzeń zapewniających stały dopływ świeżej pożywki i usuwanie starej wraz z nadmiarem bakterii. Urządzenia takie zaproponował Utienkow i nazwał je „mikrogeneratorami" (wg Kolakowa 1952) oraz Monod (1942). Aparatura Monoda znana jest pod nazwą „chemostatu".

Hodowla w mikrogeneratorze lub chemostacie nie starzeje się, a komórki nie podlegają cytomorfozie.

W warunkach naturalnych odnawianie środowiska, w którym żyją bakterie, może być różne. Niekiedy z tych lub innych przyczyn dana mikronisza ekologiczna może być przez pewien czas w dużym stopniu odizolowana. Warunki panujące tam będą wówczas zbliżone do tych, jakie istnieją w hodowli probówkowej.

Kiedy indziej mikronisza może być niejako otwarta, co zapewni swobodną wymianę z otoczeniem pożywienia i produktów przemiany materii. W tym przypadku warunki upodobnią się do istniejących w mikrogeneratorze.

Pomiędzy tymi skrajnymi przypadkami istnieje ciągła skala warunków pośrednich.

W naturze więc, szczególnie w glebie — środowisku naturalnym dla większości form bakteryjnych — dość rzadko spotkać można klasyczny probówkowy cykl cytomorfozy. Równie rzadka będzie tam hodowla o typie chemostatowym. Najczęściej zaś bakterie podlegać będą w glebie częściowej, odcinkowej lub zniekształconej cytomorfozie.

Proces cytomorfozy przypomina, o czym już wzmiankowano, proces starzenie się organizmów tkankowca. I tu i tam zmiany obserwowane są wynikiem coraz to gorszego odżywienia komórek i coraz silniejszej ich intoksykacji produktami metabolizmu. U tkankowca proces komplikuje się jesz-

cze wskutek istnienia zmian związanych z naruszeniem mechanizmów regulacyjnych.

Podobieństwo jest więc tylko częściowe.

Niemniej jednak na tej podstawie niektórzy badacze (Jerusalimski 1953) traktują, jak już wiemy, cykl cytomorfozy jako ontogenezę bakterii.

Stanowisko takie nie wydaje się jednak słuszne. Proces rozwojowy hodowli nie ogranicza się do cyklu cytomorfozy. W razie zadziałania pewnych czynników, zaistnienia pewnych warunków, które spotykamy np. w hodowlach bardzo starych, rozwój bakterii może postępować nadal, niejako na innym poziomie. Dochodzi wtedy do tzw. dysocjacji, przemiany faz — rozpoczyna się łańcuch zjawisk zmienności rozwojowej, określany jako heteromorfoza.

B. HETEROMORFOZA

1. Określenie pojęcia i znaczenie biologiczne

W 1912 r. opisał Eisenberg u *Vibrio comma,* a następnie (1914b) u *S. typhi,* zjawisko, polegające na wytwarzaniu — najczęściej w starszych hodowlach — odmiennych, atypowych kolonii. Ilość tych form, różniących się pomiędzy sobą morfologią i strukturą kolonii, była bardzo duża. Niektóre z nich przypominały formę dziś nazywaną „szorstką" (*R*), inne — karłowate „Zwergformen" o średnicy 0,5—1 mm, tzw. formę gonidialną (*G*).

Zmianom morfologii towarzyszyły niekiedy zmiany własności antygenowych. Tak np. bakterie z karłowatych kolonii *S. typhi* były zlepiane w swoistej surowicy o mianie 1 : 16 000 tylko w rozcieńczeniu 1 : 100.

W tym samym czasie Baerthlein (1912) stwierdził, że badany przez niego szczep *B. coli mutabile* tworzy na agarze dwojakiego rodzaju kolonie — przejrzyste („helle") i mętne („trüb"). Surowice swoiste — otrzymane zarówno przez uodporniane typem „przejrzystym", jak i „mętnym" — aglutynowały jedynie bakterie z kolonii „przejrzystych", typ zaś „mętny" zlepiany był dopiero w najmniejszych rozcieńczeniach. Baerthleinowski typ „trüb" jest nieco zbliżony do dziś opisywanego nie aglutynującego się typu *K* u *E. coli.*

Nieco później (1918) ten sam badacz opisał dużą ilość typów kolonii, wytwarzanych przez pałeczki gramujemne na podłożach agarowych.

Podobne obserwacje poczynili Beijerinck (1912) i Toenissen (1914).

Zagadnienie to wzbudziło na nowo zainteresowanie, gdy prawie równocześnie de Kruif (1921, 1922) wyróżnił w hodowlach płynnych *Pasteurella cuniculicida* wzrost dyfuzyjny (typ *D*) i ziarnisty, granularny (typ *G*), Arkwright zaś (1921, 1924) w hodowlach pałeczek z grupy *coli — typhi — shiga* typ wzrostu szorstki (*R*) i gładki (*S*).

Różnice pomiędzy typem *R* i *S*, dotyczące cech wzrostowych, morfologicznych, antygenowych, zjadliwości itd., są wszystkim zbyt dobrze znane z każdego podręcznika mikrobiologii, aby warto było je tu wyliczać (tabl. I, fot. 5, 6 i 7).

Uzupełnię to tylko wynikami obserwacji Bisseta (1948b), który częściowo potwierdzając liczne dawniejsze doniesienia (np. Pieszko-

wa 1945, 1946a, Robinowa 1944) stwierdził, że bakterie w typie *S* są „jednokomórkowe" i wyposażone w dwa nukleoidy, podczas gdy w typie *R* mają charakter „wielokomórkowy", przy czym poszczególne „komórki" zawierają tylko po jednym nukleoidzie.

Znaczenie tych różnic cytologicznych nie jest jasne i, jak się zdaje, nie są one regułą, gdyż nie występują pomiędzy typami *S* i *R* paciorkowców oraz laseczek zarodnikujących.

Prócz typów *S* i *R* znamy cały szereg typów pośrednich, jakie na przykład opisano u *Pasteurella pestis* i *Pasteurella pseudotuberculosis* (Zlatogorow 1904, Bessonow i Lenska 1929, Pokrowska 1929, Korobkowa 1937, Bessonowa et al. 1936, Żukow-Wiereżnikow 1945, Tumanski 1948).

Ponadto znane są typy, które nie dają się podciągnąć pod fazy *S* i *R* lub pośrednie formy.

Obok wielu dawniej opisywanych (p. wyżej) wymienić należałoby liczne formy kolonii paciorkowców wyróżnione przez Flecka i Elster (1932), częściowo przyrównywalne do obecnie uznanych typów, których charakterystykę znajdzie czytelnik w monografii Pakuły (1953).

Zaliczyć tu wypadnie również typ *M* (śluzowe), *G* (gonidialne), dysocjacje maczugowców (Robinson 1934, McLeod 1943, Goldie et al 1948) i wiele innych, które dotychczas są niedostatecznie scharakteryzowane i zbadane.

Właściwość dawania wzrostu różnych typów, różniących się ponadto wieloma innymi cechami morfologiczno-cytologicznymi i fizjologicznymi, jest u bakterii niemal powszechna i trudno byłoby znaleźć gatunek, u którego nie zostałaby zaobserwowana.

Jak należy tłumaczyć tego rodzaju zmienność, jaki jest jej mechanizm i sens biologiczny?

Pytania te postawiło sobie wielu badaczy i wiele też zaproponowano odpowiedzi.

Eisenberg (1912) uważał tego rodzaju zmienność za mutację indukowaną przez czynniki środowiskowe.

Podobne stanowisko zajmowali Beijerinck (1912) i Toenissen (1914).

Hadley (1927, 1937) uważał to zjawisko za wynik endogennych mutacji i określił je nazwą „dysocjacji". Termin ten słusznej krytyce poddali Fleck i Elster (1932), uważając, że jest on zwodniczy, gdyż insynuuje, jakoby zachodziło tu jakieś „rozszczepienie", co w rzeczywistości nie ma miejsca.

Braun w licznych publikacjach (Braun 1949, Cole i Braun 1950a, b, Goodlow; Mika i Braun 1950) stara się udowodnić, że jest to „spontaniczna" mutacja, występująca niezależnie od środowiska. Poglądy Brauna zostaną omówione nieco później.

Wilson i Miles (1946) określają tę zmienność jako „skorelowaną wariację", Imszeniecki (1953) jako „kierowaną zmienność", Jerusalimski (1953) jako „rozwój stadialny", Kalina (1953) jako ontogenezę, Gamaleja (1951) jako odwracalną reakcję na nieodpowiednie warunki hodowli.

G a m a l e j a wprowadził termin heteromorfoza, który z wszystkich proponowanych jest może najtrafniej wybrany i którym posługiwać się będziemy nadal w tym referacie.

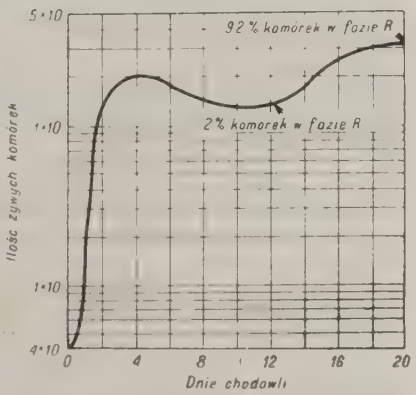
Wreszcie M e l l o n (1942) określa heteromorfozę jako „wielofazową potencję" bakterii.

Spróbujmy teraz rozpatrzyć powyższe zagadnienie na nowo.

Przede wszystkim przypomnijmy, że heteromorfizm pojawia się wtedy, gdy możliwości przystosowawcze bakterii, realizowane w cytomorfozie, zostaną wyczerpane. Cytomorfoza może, ale nie musi zakończyć się śmiercią hodowli. Przeżycie jej uwarunkowane jest zdolnością do przestrojenia się i rozpoczęcia nowego cyklu wzrostowego, lecz przebiegającego w innej fazie.

Pięknie wykazują to, może nawet wbrew woli autora, cytowane już prace B r a u n a.

Zaczerpnięty stamtąd rys. 10 pokazuje bardzo wyraźnie, jak po zakończeniu cyklu wzrostu komórek w fazie *S*, podczas którego przeszły one oczywiście typową cytomorfozę, gdy rozpoczęło się zamieranie — pojawia się nowy cykl wzrostowy, przebiegający jednak w innej fazie — w fazie *R*. Widoczne jest, że po zakończeniu cytomorfozy dalszy wzrost realizowany jest przez przemianę faz, przez heteromorfozę.



Rys. 10 Wzrost hodowli *Brucella abortus* faza S na pożywce syntetycznej. Przejście w fazę R, wg G o o d l o w, M i k a i B r a u n 1950 (uproszczone)

W tej samej pracy (G o o d l o w, M i k a i B r a u n 1950) jest wzmianka, że po bardzo długotrwałej hodowli (50-dniowej), gdy zaczęło się zamieranie w fazie *R*, nastąpiła nowa przemiana fazy, przy czym kolejny cykl wzrostowy powtórzył się po raz trzeci. Tym razem bakterie rosły w postaci zbliżonej do wyjściowej *S*, różniącej się jednak od niej morfologią kolonii i wymaganiami wzrostowymi, i oznaczonej przez autorów symbolem *S'*.

W warunkach panujących w hodowlach bardzo starych lub też przy istnieniu pewnych silnie działających czynników zewnętrznych nawet w hodowlach młodszych, zmienność właściwa normalnej heteromorfozie może okazać się niedostateczną do zapewnienia dalszego przeżycia bakterii.

Występuje wówczas swoisty rodzaj zmienności heteromorficznej, zmienność inwolucyjna, regeneracyjna, której przykładem są postacie *L*, formy przesączalne itp.

W zakończeniu rozważań ogólnych o heteromorfozie pragnę zaznaczyć, że tworzenie endospor może być prawdopodobnie, przynajmniej w pewnym stopniu, uważane za jeden z przejawów heteromorfozy, w którym powstają-

ca w drodze przemiany forma, odznaczając się możliwością przeżycia nowych warunków, nie jest zdolna do rozmnażania się i wzrostu, lecz musi uprzednio ponownie przejść w fazę wyjściową.

Tworzenie zarodników następuje zwykle w okresie zamierania hodowli, pod koniec cytomorfozy lub też w innym momencie, gdy zadziałają określone czynniki. Fakt, że wiele czynników szkodliwych często zamiast indukować zarodnikowanie zapobiega mu, nie zmienia postaci rzeczy, gdyż liczne czynniki szkodliwe hamują również przemianę faz.

Na pewne pokrewieństwo tych zjawisk wskazuje natomiast to, że w obu przypadkach zmiany dotyczą przede wszystkim charakteru powierzchni bakterii, że pociągają za sobą utratę swoistości antygenowej oraz że na oba procesy specyficzny wpływ wywiera alanina.

Mianowicie d-alanina (lecz nie l-alanina) hamuje kiełkowanie zarodników, przy czym w czasie kiełkowania znajdująca się w sporach l-alanina pod wpływem racemazy przechodzi w d-alaninę (Stevart i Halverson 1953).

Podobnie w hodowlach fazy *S Brucella abortus* gromadzi się l, d-alanina, hamująca następnie rozwój i powodująca przemianę w fazę *R* (Goodlow, Mika i Braun 1950).

Porównanie obu tych zjawisk może mieć obecnie jedynie wartość hipotezy roboczej, a rozstrzygnięcie zagadnienia oczekiwać musi na dodatkowe obserwacje, specjalnie dotyczące przemian cytologicznych.

2. Mechanizm heteromorfozy

Zmiany, obserwowane przy przechodzeniu bakterii z jednej fazy w drugą, zdają się być związane przede wszystkim ze zmianami struktur powierzchniowych komórki.

Przemawiają za tym następujące fakty, dotyczące przemiany $S \rightarrow R$:

Utrata sympleksu wielocukrowo-lipido-białkowego (antygen somatyczny *O* gramujemnych pałeczek) i zmiana charakteru powierzchni komórki na lipidowy, hydrofobowy. Częściowe zakłócenie procesu podziału komórek, prowadzące do tworzenia nici lub łańcuszków, a niekiedy odwrotnie do powstawania form ziarenkowatych.

Zmiana innych cech — zawieszalności w roztworach elektrolitów, własności antygenowych, typu wzrostu w podłożach płynnych i na pożywkach stałych, zjadliwości, podatności na fagocytozę, wrażliwości na fagi, tworzenie rzęsek — jest niewątpliwie wynikiem zmian charakteru powierzchni bakteryjnej.

Nawet pewna obserwowana często zmienność biochemiczna, polegająca na zmniejszeniu aktywności hydrolitycznej lub rzadziej na jej częściowym zaniku, może być zależna od zmian struktury powierzchniowej.

Zmiana przepuszczalności błony dla niektórych substratów enzymatycznych lub też dla ektoenzymów może za sobą pociągnąć osłabienie lub utratę zdolności do wykorzystywania danego substratu.

Znajdowałoby to potwierdzenie w tym, że dotychczas w przypadkach, kiedy dokonano badań nad składem aparatu enzymatycznego, nie stwierdzono różnic jakościowych w wyposażeniu enzymatycznym bakterii w fazie *S* i *R*.

Zakłócenie procesu podziału komórki może być — i przypuszczalnie jest — związane ze zmianami struktur powierzchniowych, prawdopodobnie błony cytoplazmatycznej.

Zgodnie z poglądami Nickersona (1948) wzrost polega na tworzeniu długich micelli białkowych. Podział komórki jest natomiast powodowany przez niedopuszczanie do tworzenia wiązań międzycząsteczkowych za pośrednictwem grup sulfhydrylowych (—SH). Nickerson uzasadnia to obserwacjami, zgodnie z którymi substancje działające na grupy —SH, np. penicylina, jon kobaltu, profławina, m-krezol, powodujące tworzenie mostków —S—S—, hamują jednocześnie podział i prowadzą do tworzenia nici. Cysteina znosi tego rodzaju działanie penicyliny.

Zakłócenie podziału może być powodowane też przez inne przyczyny, np. przez zmiany stanu pęcznienia, wynikające z oddziaływania jonów. Tak więc Voss (1952) stwierdził, że chlorki i azotany większości metali lekkich hamują podział komórek, powodując wytwarzanie nici (u *Mycobacterium lacticola* i *Corynebacterium segmentosum*), wydłużanie komórek (u paciorkowców) lub ich powiększenie (u *Micrococcus*). Natomiast chlorek cezu działał wręcz odwrotnie. Cez ze wszystkich stosowanych kationów najłatwiej wywołuje rozładowanie dipoli, wiążących micelle (Frey-Wyssling 1948).

Podobne obserwacje jak Voss poczynił też Heinzel (1950).

Ponieważ przemianie fazy *S* w *R* towarzyszy zmiana ładunku powierzchni bakteryjnej (Miles i Pirie 1949) i utrata ochronnie działających koloidów wielocukrowych, można przypuszczać, że zakłócenie procesu podziału komórek uwarunkowane jest zmianą charakteru wiązań dipolowych oraz mostków siarkowych (— S — S —), łączących micelle białkowe.

Wiele przemawia więc za tym, że heteromorfoza na odcinku przemiany *S* → *R* związana jest przede wszystkim ze zmianami natury i charakteru powierzchni bakterii.

Bakteria, po wyczerpaniu możliwości przystosowawczych istniejących w cytomorfozie, niejako „zmienia skórę" i przechodzi do następnej fazy.

Podobnie przechodzenie w fazę *M* związane jest ze zmianą powierzchniową, tworzeniem otoczki. Przynajmniej u tych bakterii, które wytwarzają otoczki węglowodanowe, przemiana ta powodowana jest przez zakłócenie metabolizmu węglowodanowego (Ciuca et al 1949), wynikające z zadziałania czynników szkodliwych lub z względnego niedoboru azotu i fosforu (Dugu'd 1948, Kořínek i Pokorný 1951).

Spośród zjawisk heteromorfozy najlepiej stosunkowo poznano przemianę fazy *S* w *R* i czynniki jej sprzyjające. Na ogół uważa się, że przemiana ta zachodzi pod wpływem różnorakich czynników dysgenetycznych, np. swoistych surowic odpornościowych, fagów, LiCl (Makowska 1931) nieodpowiednich warunków hodowli itp.

Zagadnienie to dokładniej przebadał cytowany już Braun. W 1949 stwierdził on, że normalna surowica bydlęca hamuje przemianę *S* → *R* i wzrost fazy *R Brucella abortus*. Czynnik hamujący zawarty był we frakcji globulinowej, natomiast albumina wywierała wpływ przeciwny. Podobnie zachowywały się normalne surowice ludzkie, świńskie i królicze.

Surowice krów uodpornionych szczepem *Buck 19* przestawały hamować tę przemianę, przy czym zmiana oddziaływania surowicy na bakterię nie

była związana z narastaniem poziomu aglutynin. Czynnik hamujący przemianę *S* → *R* zanikał w surowicach odpornościowych w 4 tygodnie po pojawieniu się aglutynin, a ponownie pojawiał się dopiero po dwóch i więcej latach, w długi czas po zniknięciu przeciwciał zlepnych.

Co ciekawsze, okazało się, że surowice zwierząt naturalnie odpornych na brucelozę (chomik, szczur, mysz, kura, kaczka, bażant) nie zawierały w ogóle czynnika hamującego przemianę.

Czynnika tego brak też w surowicach krów ciężarnych, od 6 miesiąca ciąży do porodu.

Późniejsze badania (C o l e i B r a u n 1950 b) wykazały, że dla zahamowania przemiany *S* → *R* wystarcza dodatek 0,1 — 0,5 ml 5% roztworu γ-globuliny lub 0,5 — 1,0 ml 1% roztworu β-globuliny do 5 ml bulionu odżywczego. Czynnik hamujący ma charakter białkowy, nie dializuje, jest ciepłoczuły, wrażliwy na działanie enzymów proteolitycznych, jodu, formolu, miedzi.

Nawiązując do powyższego należy zaznaczyć, że H o e r l e i n już w 1948 r. zauważył hamujące działanie γ-globuliny na „wariację" gronkowca złocistego.

We wzmiankowanej już pracy z 1950 r. (G o o d l o w, M i k a i B r a u n 1950) przedmiotem badań był mechanizm przemiany *S* → *R* w starzejących się hodowlach *B. abortus* na pożywce syntetycznej. Stwierdzono przede wszystkim, że w czasie wzrostu gromadzi się, jako produkt metabolizmu bakteryjnego, alanina. Następnie wykazano zależność pomiędzy zawartością alaniny w podłożu a zahamowaniem wzrostu fazy *S* i przemianą w fazę *R*.

W obecności alaniny następuje drugi cykl wzrostowy, tym razem fazy *R*, a po nagromadzeniu jeszcze większych ilości alaniny, zahamowanie wzrostu fazy *R* i trzeci cykl — fazy *S'* (patrz rys. 10 i uwagi na s. 227).

W kolejnej pracy (C o l e i B r a u n 1950 a) przekonano się, że dodatek do pożywki pyrofosforanu sodu zahamowuje przemianę *S* → *R*. Działanie pyrofosforanu polega tu na wiązaniu jonów magnezu i manganu. Potwierdza to wynik doświadczenia, w którym dodatek jonów Mn lub Mg znacznie przyspieszył przemianę.

Autorzy przypuszczają, że magnez i mangan biorą udział w syntezie alaniny oraz że w pożywkach z surowicą akumulacja alaniny jest znacznie zmniejszona. O ile przypuszczenie to okaże się słuszne, wówczas działanie pyrofosforanu i wspomnianych kationów wytłumaczyć należałoby wpływem alaniny, stwierdzonym w poprzedniej publikacji.

Omówiliśmy nieco szerzej doświadczenia B r a u n a po pierwsze dlatego, że doskonale ilustrują one naszą koncepcję heteromorfozy.

Wszystkie czynniki, zarówno zależne od procesów rozwojowych samej hodowli, jak i egzogenne, prowadzące do nagromadzenia w podłożu konkretnego produktu metabolizmu, wywołują przemianę faz jako objaw przystosowania się do nowych warunków. W miarę zachodzenia zmian w środowisku, dalszy rozwój bakterii okazuje się możliwy tylko dzięki zdolności do przemian heteromorficznych, prawdopodobnie związanych z przepuszczalnością błony dla czynnika szkodliwego (alaniny).

Po drugie, zatrzymaliśmy się dłużej przy badaniach B r a u n a ze względu na interpretację wyników, proponowaną przez tego autora.

Według B r a u n a przemiana *S* → *R* jest przykładem „mutacji spontanicznej", a czynniki środowiskowe (γ- i β-globuliny, alanina) odgrywają jedynie rolę czynników selekcjonujących.

Otóż rozumowanie B r a u n a zawiera parę zasadniczych błędów. Pierwszym jest to, że wprawdzie alanina hamuje wzrost fazy *S*, ale brak alaniny nie wpływa hamująco na rozwój fazy *R* (tabela 4 w pracy G o o d l o w, M i k a i B r a u n 1950). O ile więc przemiana S → R jest „spontaniczna", zachodzić powinna w pożywkach nie zawierających alaniny, a ilość osobników o charakterze „R" powinna wzrastać w miarę starzenia się hodowli, aż do ustalenia pewnej równowagi ilościowej obu faz, zależnej od częstości „powrotnej mutacji" *R* → *S*.

Tymczasem, zapobiegając gromadzeniu się alaniny przez dodatek pyrofosforanu, otrzymali C o l e i B r a u n (1950 a) hodowle nie zawierające w ogóle bakterii w fazie *R*. Zatem wyniki własnych doświadczeń B r a u n a, bez dodatkowych dowolnych i niesprawdzonych eksperymentalnie założeń, nie dadzą się wytłumaczyć hipotezą „spontanicznych mutacji".

Po drugie, hipoteza „spontanicznych mutacji" zakłada niezależne od zewnętrznych warunków pojawianie się z określoną, bardzo małą częstością (*ca* $1 : 10^5 — 10^7$) nowej odmiany.

B r a u n nie starał się nawet zbadać, jaka jest częstość pojawiania się osobników „R" w hodowli fazy S, czy czynniki zewnętrzne wpływają na tę częstość itd. Zatem wyniki jego doświadczeń *nie mogą* przemawiać ani przeciw, ani za słusznością postawionej przezeń hipotezy.

Dojdziemy więc do wniosku, że większość eksperymentów B r a u n a nie tylko nie wykazuje słuszności hipotezy „mutacji spontanicznych", ale po prostu nie ma żadnego związku z tym problemem. Wyniki pozostałych eksperymentów (brak kumulacji fazy R w miarę starzenia się hodowli przy braku alaniny) są wprost niezgodne z tą hipotezą.

Teoretyczne rozważania B r a u n a, cytowane już w literaturze fachowej amerykańskiej jako dowody słuszności hipotezy „mutacji spontanicznych" w odniesieniu do zjawiska przemiany faz, mają swe źródło wyłącznie w jego poglądach na zagadnienia ogólnobiologiczne.

Obserwujemy tu ciekawy przypadek, gdy bardzo ciekawe i cenne wyniki doskonale przeprowadzonej pracy eksperymentalnej zostają zaopatrzone teoretycznym komentarzem, nie mającym oparcia ba! nawet związku z faktycznym materiałem, zebranym w czasie badań.

Duża wartość rezultatów doświadczalnych jak parawan przysłania zarówno samemu badaczowi, jak i wielu fachowcom, bezwartościowość rozumowania teoretycznego.

Tego rodzaju, zwykle nieuświadomione przekonanie, że dobra praca eksperymentalna przemawia za słusznością teoretycznych poglądów badacza, spotyka się niestety w dziedzinie nauki o zmienności bakterii dość często.

Przeciw teorii „mutacyjnej" przemawia w przypadku heteromorfozy również praca M c I l o r o y, A x e l r o d a i M e l l o n a (1948) nad przemianą faz *M* → *S* u szczepu „Stoddard" paciorkowca z grupy serologicznej *C*. Otóż brak octanu w podłożu powoduje przemianę *M* → *S* w 100%. Dodatek octanu indukuje przemianę w kierunku przeciwnym

($S \rightarrow M$). Ponieważ faza M nie hamuje fazy S, zatem selekcja nielicznych „mutantów" jest w tym przypadku bardzo mało prawdopodobna.

Zdaniem moim o wiele lepiej tłumaczy obserwowane zjawisko i w żadnym przypadku nie jest z nim sprzeczna hipoteza, wedle której bakterie są potencjalnie wielofazowe, a o tym, która z potencjalnych możliwości zostanie zrealizowana w rzeczywistości, decyduje środowisko.

„Wielofazowość" taka byłaby właśnie przejawem elastyczności i plastyczności bakterii, dzięki którym stwierdzamy mimo przerażającej swym zakresem zmienności u bakterii pewną, względną stałość, pewien konserwatyzm dziedziczności, umożliwiający nam oznaczanie i rozpoznawanie gatunków bakterii.

Hipoteza ta oczywiście nie narusza w niczym zasady zmienności gatunków, nie wszystkie bowiem zjawiska zmienności mają znaczenie gatunkotwórcze, lecz częściej dotyczą procesów wewnątrzgatunkowych.

Wskutek kierunkowości zmian środowiskowych, jakie zachodzą w hodowli, heteromorfoza odznacza się również pewną kierunkowością.

Szybkość jej przebiegu, kolejność a nawet ilość etapów jest jednak zależna od czynników środowiskowych, pozahodowlanych, działających zawsze, choć w różnym stopniu, na kultury bakteryjne.

Potencjalna wielofazowość jest powstałym na drodze ewolucji mechanizmem, umożliwiającym bakteriom rozwój w różnorodnych środowiskach bez zatraty istotnych cech gatunkowych.

W zjawisku tym dostrzec możemy ścieranie się przeciwstawnych elementów: konserwatyzmu materii żywej, określonego jako dziedziczność, i zmienności materii żywej, będącej wynikiem działania czynników zewnętrznych i endogennych.

Znaczenie heteromorfozy dla procesów zmienności ustalonej dziedzicznie, nieodwracalnej, zostanie rozpatrzone w rozdziale IX.

Zdolność przystosowawcza, związana z opisanymi przemianami heteromorficznymi, nie zawsze jest wystarczająca do zapewnienia kontynuacji rozwoju bakterii.

W tych przypadkach dochodzi do przemiany bakterii w fazę inwolucyjno-regeneracyjną.

Rozdział V

HETEROMORFOZA INWOLUCYJNO-REGENERACYJNA

„Wenn wir nun solchen Entwicklungsgang verfolgen, so dürfen wir nicht vergessen, dass er stets ganz unter dem Bann der äusseren Bedingungen steht".

Benecke W. (1912): *Bau und Leben der Bakterien.*

Zagadnienie obecnie poruszane jest bardzo skomplikowane, ilość badań z nim związanych olbrzymia, a liczne aspekty problemu są nadal nie rozwiązane.

Problem jest zróżniczkowany i obejmuje: formy przesączalne, formy gonidialne, cyklogenię, teorię Hadleya, teorię Kuhna, badania nad po-

staciami L (formami reaktywnymi), stosunek form regeneracyjnych do drobnoustrojów seifiertowskich i *Borrelomycetaceae*, przebieg onto- i embriogenezy u bakterii.

Wydaje się celowe rozpoczęcie tego rozdziału od omówienia form przesączalnych, awizualnych.

Przegląd dawniejszej literatury na ten temat został ogłoszony w polskim języku przez Eisenberga (1933). Sądzę, że cytowanie większości dawniejszych prac oraz wielu nowszych nie wzbogaciłoby naszej wiedzy o istocie i roli form przesączalnych. Słuszność jakiejś obserwacji lub hipotezy nie może być oceniana na podstawie ilości cytowanych, zgodnych z nią w zasadzie publikacji. Przykładem tego może być teoria Löhnisa (Löhnis i Smith 1916, Löhnis 1921), poparta przez autora olbrzymią ilością cytat i wzmianek znajdowanych w fachowej literaturze, a która mimo to pozostała w sferze „naukowych fantazji" (Winogradski 1937).

Z uwagi na pewne metodyczne odrębności i swoistość materiału badawczego należałoby wyodrębnić w zagadnieniu powyższym trzy grupy zjawisk: formy przesączalne krętków, kwasoodpornych prątków oraz innych bakterii.

Wniosek o obecności postaci awizualnych, przesączalnych u krętków, opierali zarówno dawniejsi badacze (np. Krzyształowicz i Siedlecki 1905, Nicolle, Lev-aditi i inni — cyt. za Eisenbergiem 1933), jak i nowsi (np. Geltcer i Kryłowa 1953) na wynikach obserwacji hodowli lub zachowania się krętków w organizmie zakażonym.

Niemożność znalezienia krętków w preparatach barwionych lub w ciemnym polu widzenia w pewnych stadiach hodowli (np. u *Leptospira*) lub choroby, podobnie jak stwierdzenie w preparatach rozpadu krętków na „ziarnistości", trudno uznać za dowód istnienia formy przesączalnej lub awizualnej.

Przyczyną nieznajdowania krętków w preparatach może być zarówno ich rzeczywisty brak, jak i takie zmniejszenie się ich ilości, iż szanse natrafienia na bakterię w preparacie spadną niemal do zera. Ziarnistości zaś, powstające z krętków i znajdowane przy obserwacji mikroskopowej, mogą być zarówno formami żywymi, jak i martwymi produktami rozpadu krętków.

Musimy więc dojść do wniosku, że mimo dużej ilości doniesień, często pochodzących od wybitnych badaczy, istnienie form przesączalnych u krętków dotychczas nie zostało udowodnione.

Zagadnienie form przesączalnych *Mycobacterium tuberculosis* jest jeszcze bardziej skomplikowane.

Starsze prace, omówione przez Eisenberga (1933) i Karwackiego (1933), nie dawały podstaw do wyciągnięcia ostatecznych wniosków.

Niektóre z nich, jak np. badania Sergenta (1928), Sergenta et al (1928), Sanarelliego i Alessandriniego (1932, 1932), Mellona et al (1932), Calmetta (1933), Calmetta, Valtis i Lacomme'a (1928), Vaudremera (1923), Kiedrowskiego (1935), Kahna (1932), a z polskich: Karwackiego (1933), Panka i Zacharowa (1928), Panka (1933), Fejgin (1933), zdają się wska-

zywać na istnienie form ziarnistych, niekwasoodpornych i przesączalnych zarazka gruźlicy.

Niestety większość prac opierała się na pasażowaniu materiału badanego przez zwierzęta doświadczalne. Przy metodzie tej nie można wykluczyć przedostania się do materiału, którym szczepione jest zwierzę, pojedynczych prątków; ponadto długi okres badania i trudności kontroli zmniejszają wartość wyników.

Te same zastrzeżenia dotyczą wielu nowszych prac, np. Kirchenstajna (1943).

Godniejsze zaufania są prace posługujące się wyłącznie metodą hodowli. Prace te mają jednak zasadniczą wadę — są niepowtarzalne.

Tak np. ciekawe rezultaty badań Panka (1933), który otrzymał w przesączach hodowlę form ziarnistych, tworzących z węglowodanów kwas mlekowy, a na podłożu Besredki osiągnął rewersję tych form do postaci normalnego kwasoodpornego prątka, nie zostały przez nikogo następnie potwierdzone.

W przypadku, gdy stosując technikę Panka powtórzono badanie, otrzymano wynik negatywny (Piasecka-Zeyland i Zeyland 1933 a, b).

Nikt ze zwolenników hipotezy występowania *Mycobacterium* w postaci awizualnej nie podał dotychczas dokładnej metody i nie sprecyzował tak warunków doświadczenia, aby otrzymanie analogicznych rezultatów przestało być zrządzeniem losu, a stało się trwałą zdobyczą nauki.

Może najwięcej wnoszą tu obserwacje ciągłe wykonane na materiale żywym. Wspomniany już Kahn (1932) zakładał przy pomocy mikromanipulatora jednokomórkowe hodowle. W przeszło dwustu przypadkach stwierdził tworzenie się ziarnistości (0,11 — 0,38 μ), które stopniowo przechodziły z powrotem w postać prątka.

Brieger i Glauert (1952), posługując się obserwacją w mikroskopie konstrastowo-fazowym, zauważyli tworzenie symplazmy, form mycelialnych i drobnych (0,2 μ) pałeczek.

Już dawniej Gróh (1937) obserwował rozpad prątków na „ziarna", które uważał za zarodniki.

Jak wynika z prac Bissета (1950), fragmentacja u *Mycobacterium* jest zjawiskiem normalnym.

„Człony" lub ziarna, na które rozpada się prątek, są zatem często dość małe (0,2 μ i mniej) i mogą przechodzić przez filtry bakteriologiczne o grubszych porach.

Tłumaczyłoby to „przesączalność" *Myc. tuberculosis*. Z faktu tego nie wynika, że istnieje „przesączalne stadium" prątka, zdolne do rozmnażania się jako takie i mające cechy odmienne od postaci bakteryjnej.

Możliwe również, że normalnie „wielokomórkowy" prątek w pewnych warunkach, w cyklu zwykłej cytomorfozy, rozpada się na „jednokomórkowe" człony.

Zagadnienie form regeneracyjno-involucyjnych, „przesączalnego stadium" mykobakterii, jest zatem nadal otwarte.

Postacie przesączalne u *Eubacteriales* były tyle razy opisywane, a poszczególne eksperymenty tak często, przynajmniej z częściowym sukcesem, powtarzane, że istnienie ich nie może ulegać wątpliwości.

Formy takie otrzymali z przesączów starych hodowli Almquist (1911) u *Bact. antityphosum*, Haudurov (1936) u granujemnych pałeczek, maczugowców, ziarenkowców, Smith i Jordan (wg Eisenberga 1933) u maczugowców. Wzrost w filtratach był bardzo powolny i niekiedy dopiero po tygodniach lub miesiącach pojawiało się zmętnienie, a w preparatach znajdowano postacie ziarenkowate — gonidialne.

Wzrost na podłożach stałych był również słaby, stosunkowo najlepszy na pożywkach z mleczanem wapnia.

Haudurov zastosował specjalną metodę hodowli tych form, polegającą na kolejnym, coparodniowym przesiewaniu materiału na przemian z pożywki płynnej na agarową i następnie z agarowej na płynną. Przesiewy te kontynuował nawet wówczas, gdy ani na płynnej, ani na stałej pożywce nie można było zauważyć wzrostu. Wielokrotnie po szeregu takich „jałowych" przesiewów otrzymywał nagle wzrost form ziarnistych.

Postacie te niekiedy przechodziły po dłuższej hodowli w bakteryjne formy wyjściowe, co pozwoliło ustalić ich genetyczny związek z badanymi drobnoustrojami.

Podobne obserwacje poczynił d'Herelle, hodując z przesączu fagolizatu pałeczki *Shiga* powoli rosnące formy ziarniste i otrzymując z nich następnie z powrotem pałeczki czerwonkowe.

Hadley (1927) i Hadley i Klimek (1931) znajdowali w hodowlach pałeczek *Shiga-Kruse* na bulionie alkalicznym (pH 7,5 — 7,8), w bulionie z dodatkiem 0,25 — 0,5% LiCl lub 5% pankreatyny oraz w przesączach hodowli, formy tworzące maleńkie, karłowate (4 μ — 0,2 mm) kolonie, składające się z tworów ziarenkowatych o rozmiarach 0,12 — 1,0 μ.

Postać tę nazwał Hadley, może nie nazbyt fortunnie, postacią gonidialną (*G*).

Daje się ona hodować wg metody Haudurov naprzemiennych przesiewów na bulion i agar.

Charakterystyczne, że Hadley potwierdził obserwację Haudurov, dotyczącą przejściowego znikania wzrostu w pasażach, pojawiania się szeregu „jałowych" przesiewów, po których ponownie następuje rozwój formy *G*.

Twory ziarniste powstają albo w tworzących się uprzednio ciałach kulistych, lub też wprost z pałeczek przez pączkowanie.

Są one bardzo wytrzymałe i w bulionie pozostają żywe przez okres dwuletni. Dają się sączyć, lecz w przesączach wzrost jest początkowo bardzo zwolniony. Są niezjadliwe i mają nieco odmienne własności biochemiczne niż macierzyste bakterie.

Postać *G* udawało się autorom czasem znaleźć również i w normalnej, starej hodowli bulionowej *Shigella*.

Formę *G* opisał później Hadley u wielu innych bakterii (*Escherichia coli, Salmonella typhi, S. paratyphi A* i *B, Vibrio comma, Corynebacterium diphteriae, Bacillus anthracis, Lactobacillus acidofilus*).

Znaczenie form G i ich stosunek do innych postaci regeneracyjnych zostaną omówione później.

Tu zaznaczymy, że niektórym badaczom udało się tylko częściowo potwierdzić wyniki Hadleya. Klieneberger-Nobel (1931, 1951) uważa postać *G* za nieprzesączalną. Flynn i Rettger

(1934) również nie stwierdzili przesączalności form *G*, a ponadto otrzymane przez nich karłowate kolonie składały się nie z kokoidów, lecz z normalnych pałeczek.

Pracowali oni jednak z innym drobnoustrojem (*Bacillus mesentericus*) i stosowali podobną, ale nie identyczną technikę.

Badania Hadleya znajdują jednak potwierdzenie zarówno w dawniejszych, wspomnianych pracach nad przesączalnymi formami bakterii, jak i w wielu innych obserwacjach.

Tak więc powstawanie pod wpływem różnych czynników form przesączalnych, które poprzez stadium postaci ziarnistych, dających karłowate kolonie na agarze, przechodziły z powrotem w formy bakteryjne, opisali: Kwaszina (1931) u *S. paratyphi*, Korolkowa (1933) u *V. comma*, Rudakow (1934) u *Bacillus casei*, Tierientiew (1936, 1939) u *B. anthracis*, Fejgin (1928) u *E. coli*, Bohdanowiczówna i Ławrynowicz (1933), Sukniew (1932, 1935), Sukniew i Wolferc (1932), Sukniew i Timakow (1937), Grinbaum (1948, 1953), Grinbaum et al (1953), Krestownikowa (1947), Iwanowa (1953), Timakow (1953), Utienkow i Kalina (wg Sacharowa 1952), Kuprejczuk (1953), Keleti et al (1954), Juhasz (1954), Smorodincew i Kriwiski (1953), Izrailski (1953), Muromcew (1953); (tabl. II, fot. 8—10).

W pewnych przypadkach przesączalność wynika z małych rozmiarów normalnych pałeczkowatych bakterii. Przykładem może być przesączalność pływek *Rhizobium* (Izrailski 1933, 1953). Fakt ten tłumaczy rozbieżność w wynikach uprzednich badań nad przesączalnością bakterii brodawkowych (pozytywne próby Ulmana i Baldwina 1933 i negatywne Allen i Allen 1950), (tabl. II, fot. 11).

Podobnie przesączalność *Pasteurella tularense* może być możliwa, dzięki występowaniu w hodowlach bardzo drobnych pałeczek (Hasselbrook i Forshey 1945 a, b).

Przeważnie jednak w przesączach otrzymywano powolny wzrost a przy przesiewach na agar karłowate kolonie form ziarenkowatych.

Czynnikami, pod których wpływem powstały formy przesączalne, były we wzmiankowanych badaniach bakteriofagi, surowice odpornościowe, wyciągi z tkanek i płyny ustrojowe, antybiotyki, środki dezynfekcyjne, mechaniczne uszkodzenie komórek za pomocą fal ultradźwiękowych lub po prostu starzenie się hodowli.

Otrzymywane z powrotem z form ziarnistych postacie bakteryjne często różnią się znacznie od szczepu macierzystego.

Epstein i Fejgin (1928) z fagolizatu *E. coli* otrzymały pałeczki własnościami biochemicznymi zbliżone bardziej do *Salmonella* lub *Shigella* niż do pałeczki okrężnicy.

Bohdanowiczówna i Ławrynowicz (1933) z przesączu kultury *C. diphteriae*, prowadzonej na pożywce z wyciągiem migdałków, wyhodowali ostatecznie bakterie o własnościach maczugowców rzekomo-błoniczych.

Iwanowa (1953) z fagolizatu pałeczki *Shiga* otrzymała pałeczki *Flexnera*.

T i m a k o w (1953) wykazał, że rozwijające się po przesączeniu fagolizatów formy ziarniste tracą własności bakterii macierzystych, ulegają jakby dedyferencjacji, a następnie przy rewersji tworzą niekiedy postacie bakteryjne różne co do budowy antygenowej i cech fizjologicznych.

Należy przyznać, że wielu badaczom nie udało się potwierdzić wyników poszczególnych prac cytowanych. Trzeba jednak pamiętać, że różne szczepy tego samego gatunku, nawet zupełnie identyczne co do innych cech, mogą różnić się zdolnością przechodzenia z jednej fazy w drugą, a specjalnie zdolnością przechodzenia w stadium regeneracyjne. Ponadto eksperymenty powyższe prowadzono w pożywkach naturalnych o składzie nie określonym ściśle i bardzo zmiennym.

Niemożność potwierdzenia wyników jest tylko wtedy miarodajna, o ile zastosowano metody i materiał doświadczalny używane przez poprzedników.

Wydaje się również słuszne przypuszczenie, że istnieje więcej niż jedna faza regeneracyjna i że ich własności mogą w różnym stopniu odbiegać od cech szczepu macierzystego.

Różne też mogą być rozmiary form ziarnistych. Mniejsze i dające bardziej jednorodne zawiesiny będą przechodziły łatwiej przez filtry bakteriologiczne. Inne — większe lub rosnące w trudno emulgujących się konglomeratach — mogą zupełnie nie przenikać przez sączki.

Nieprzesączalne np. były formy „gonidialne", dające karłowate kolonie w doświadczeniach B o h d a n o w i c z ó w n y i Ł a w r y n o w i c z a (1933) i J a c o b s e n a (1933) nad *S. typhi*, J e l i n a i S a t a n o w s k i e j (1933) oraz W y c k o f f a (1933) nad *Shigella*.

Nie dają się również sączyć lub tylko z wielką trudnością formy *L* (p. niżej).

S z t e r n (1954) oraz I m s z e n i e c k i i S o ł n c e w a (1954) stwierdzili, że formy przesączalne stanowią nikły odsetek populacji bakteryjnej, co w połączeniu z ich powolnym wzrostem utrudnia ich izolację.

W związku z badaniami H a d l e y a nad postaciami *G* oraz licznymi pracami, rezultatami swymi w całości lub częściowo je potwierdzającymi, powinno się wspomnieć o doświadczeniach K u h n a i S t e r n b e r g (1931) i P r e i s z a (1937). Badacze ci zaobserwowali, że pod wpływem amoniaku, fenoli i soli litu w hodowlach *E. coli* pojawiają się formy anormalne, duże, rozdęte lub przeciwnie — małe, ziarenkowate. Jednocześnie w przesiewach na podłożach stałych, obok normalnych kolonii wyrastają karłowate, oznaczone przez K u h n a jako kolonie „*C*".

K u h n sądził, że obserwowane przez niego formy są pasożytami bakterii, „*Pettenkoferiami*", które próbował powiązać z bakteriofagami. Ta fantastyczna interpretacja nie została przyjęta poza P r e i s z e m przez nikogo.

Pozostały jednak zaobserwowane przez K u h n a fakty i doskonale ilustrujące je mikrofotografie.

Na tej podstawie można sądzić, że kolonie *C* K u h n a są prawdopodobnie identyczne z koloniami *G* H a d l e y a. Wiele postaci anormalnych, przedstawionych na zdjęciach K u h n a i P r e i s z a, przypo-

mina znów wielkie ciała kuliste i postacie *L* Dienesa (tabl. III, fot. 14 i 15).

Materiał obserwacyjny, zawarty we wspomnianych pracach, potwierdza więc w pewnym stopniu wyniki Hadleya.

Problem postaci regeneracyjnych stał się na nowo „modny" w kołach bakteriologów, dzięki całemu cyklowi badań Dienesa i jego współpracowników nad tzw. formami *L*.

W polskiej literaturze, poza wzmianką Kunickiego-Goldfingera (1951) i jego krótkim artykułem w *„Kosmosie"* (1953) oraz tymczasowym doniesieniem Horoszewicza (1953), problem ten w ogóle nie znalazł oddźwięku[1]. A problem jest ciekawy, nie tylko ze względu na znaczenie, jakie dla wszystkich gałęzi mikrobiologii mogą mieć wyniki prac Dienesa, ale przede wszystkim dlatego, że są to pierwsze badania tego rodzaju, w których metoda została dostatecznie dokładnie opisana, aby zapewnić powtarzalność rezultatów.

Nie uważam za celowe referowanie tu techniki, jaką posługiwał się Dienes w swych badaniach. Czytelnik znajdzie ją w pracach oryginalnych (Dienes i Smith 1944, Weinberger, Madoff i Dienes 1950).

Przeglądowe artykuły na ten temat ogłosili: Dienes i Weinberger (1951) oraz Klieneberger-Nobel (1951).

Pierwsze doniesienie Dienesa, do którego nawiązały późniejsze prace nad formami **L**, ukazało się w 1932. Autor opisywał tam w hodowlach bakteryjnych „non-stainable, cultivable granules".

Nieco później Klieneberger (1935) wykryła w kulturach *Streptobacillus moniliformis* ziarenkowate twory i osądziła, że jest to przypadek symbiozy bakterii z drobnoustrojem z grupy zarazków pleuro-pneumonii, który oznaczyła jako $\mathbf{L_1}$.

Cały cykl badań (Dienes 1932, 1941, 1942a, 1942b, 1943a, 1943b, 1946a, 1946b, 1946c, 1949, Dienes i Smith 1944, Dienes, Weinberger i Madoff 1950, Weinberger, Madoff i Dienes 1950) umożliwił Dienesowi dość wszechstronne opracowanie zagadnienia.

W 1949 Klieneberger-Nobel uznała słuszność jego stanowiska co do tego, że postacie **L** są formami rozwojowymi bakterii.

Wykazano, że u niektórych bakterii (*S. moniliformis, Bacteroides funduliformis*) spontanicznie, a u innych pod wpływem penicyliny, surowic odpornościowych, glicyny, karboksylmetoksylaminy itp. powstają przez pączkowanie lub pęcznienie pałeczek duże ciała kuliste (do 12 μ) (tabl. II, fot. 13, tabl. III, fot. 16, 18, 19).

Ciała kuliste tworzą się również pod wpływem wielu innych czynników (np. akryflawina, fiolet krystaliczny, sulfamidy, LiCl). Jednak tylko ciała kuliste, które powstały pod wpływem substancji pierwszej grupy, wytwarzają następnie postać ziarenkowatą (0,2 – 0,5 μ), dającą wrastające w agar mikrokolonie (formy **L**) (tabl. II, fot. 10, 12).

[1] Już po oddaniu pracy do druku zapoznałem się z referatem L. Kłyszejko w tomie VII, z. 3/4 z 1953 r. *Postępów Hig. Med. Dośw.*

Formy L pewnych bakterii nie dają się pasażować jako takie (np. pałeczki *Shiga*) lub też szybko powracają do postaci bakteryjnej.

W wielu przypadkach udało się postać L przesiewać jako czystą hodowlę, bez domieszki pałeczek.

Możliwa też okazała się rewersja takich „czystych" hodowli postaci L do formy macierzystej bakteryjnej. Ten właśnie fakt pozwolił stwierdzić, że postać L nie jest symbiontem, lecz fazą rozwojową bakterii.

Pojęcie postaci L nie jest jednoznaczne. Różne gatunki i szczepy bakterii z niejednakową łatwością wytwarzają postacie L, a żywotność tych ostatnich może być również różna.

Nawet ten sam szczep bakterii, zależnie od natężenia czynnika działającego (np. koncentracji penicyliny), może dać różnego typu formy L. Jedne z nich niezwykle łatwo przechodzą z powrotem w pałeczki, u drugich rewersja nie udaje się, trzecie wreszcie zajmują pod tym względem stanowisko pośrednie.

W przypadkach badanych dokładniej własności antygenowe i biochemiczne form L były takie same, choć może nieco słabiej wyrażone, jak u macierzystych szczepów bakteryjnych.

Jak już wspomniano, wielkie ciała kuliste nie zawsze rozpadają się na ziarenkowate formy L. Niekiedy ulegają fragmentacji na pałeczki lub też te ostatnie powstają wewnątrz ciał.

Ciała kuliste spotyka się również w koloniach postaci L. Jednak powrotna przemiana w pałeczki może odbywać się zarówno za pośrednictwem ciał kulistych, jak i bezpośrednio, zależnie od szczepu i warunków.

Obserwacje D i e n e s a znalazły potwierdzenie nie tylko w nowszych pracach. Wiele dawniejszych badań dziś — po poznaniu postaci L — można poddać odpowiedniej interpretacji.

Tak więc G a m a l e j a (1894, 1925, 1932, 1951) opisał „gonidiangia" u *S. moniliformis*, będące prawdopodobnie według obecnej nomenklatury wielkimi ciałami kulistymi i kiełkującymi w nich formami L. Jego opisy form regeneracyjnych, powstających u *Vibrio metchnikovi* pod wpływem soli litu, zdają się również świadczyć, że formy te są identyczne z ciałami kulistymi i postaciami L.

Twory podobne do ciał kulistych otrzymał już M i e h e (1907) hodując w suboptymalnej temperaturze *Bacillus calfactor*, F i s c h e r (1906) zakwaszając podłoże hodowlane dla *Vibrio proteus*, a następnie R i c h t e r (1934), działając LiCl na *E. coli*, T a o (1931) i W a m o s h e r (1932).

Twory obserwowane przez B r o w n a i H e f f r o n a (1929) u *B. lutzii* oraz przez S a b e l l ę (1925) u *Erysipelothrix rhusiopathiae* są przepuszczalnie tożsame z ciałami kulistymi.

Jak już zaznaczono, G formy H a d l e y a i postacie opisane przez K u h n a pod wieloma względami przypominają L formy. Na podobieństwo kolonii C K u h n a i kolonii G H a d l e y a zwróciła uwagę już w 1931 r. K l i e n e b e r g e r. Ostatnio (K l i e n e b e r g e r - N o b e l 1951) wyrażono pogląd, że zarówno formy L, jak G i inne postacie przesączalne (np. opisane przez M e l l o n a) są w zasadzie analogiczne.

Przekonać nas zresztą o tym może choćby porównanie opisów lub fotografii, pochodzących od poszczególnych autorów (tabl. III, fot. 17).

Niektóre z tych zdjęć zestawiono w tabl. II i III. Niestety, z przyczyn niezależnych ode mnie, nie zamieszczono tam np. zdjęć 4 — 9 z tabl. V lub zdjęcia 11 z tabl. VII pracy P r e i s z a (1937), które są niemal identyczne z obrazami wielkich ciał kulistych i postaci **L**, zamieszczonymi w pracach D i e n e s a.

Obiekcje swoje co do utożsamiania postaci **L** z formami **G**, **C** itp. popiera D i e n e s obserwacjami, według których postacie **L** w odróżnieniu od pozostałych są nieprzesączalne, oraz tym, że czynniki stosowane przez poprzednich badaczy (np. LiCl) nie powodują przechodzenia bakterii w postać **L**.

Zastrzeżenia te jednak wydają się nie w pełni istotne. K l i e n e b e r g e r - N o b e l (1951) wykazała przesączalność postaci L_1 *S. moniliformis*, a za pomocą obserwacji w mikroskopie elektronowym określiła dolną granicę rozmiarów postaci **L** na 175 mμ. Mniej więcej takie same dane co do wielkości postaci **L** otrzymali S m i t h, H i l l i e r i M u d d (1948 b).

Są to zatem ziarna o wielkości cząsteczek dużych wirusów i mogą przechodzić przez filtry, a trudności związane z otrzymaniem wzrostu w przesączach wynikać mogą z trudności rozbicia konglomeratów, w jakich występują postaci **L**, i z nieznajomości takich warunków hodowli, które zapewniłyby rozwój nawet z pojedynczych osobników.

Wagę drugiego zastrzeżenia D i e n e s a, dotyczącego natury czynników wywołujących przemianę faz, zmniejszają własne wyniki jego prac, według których istnieje więcej niż jedna postać **L** – np. łatwo ulegający rewersji typ *3B* u *Proteus* i ustalony typ *3A*.

Różnorodność form właściwych dla fazy regeneracyjnej może być znacznie większa, zależnie od właściwości bakterii i warunków środowiskowych. Wg D i e n e s a postać **L** wyróżnia się jeszcze tym, że rośnie jedynie na podłożach z surowicą lub ascites, podczas gdy np. wzrost form **G** można otrzymać na zwykłym agarze odżywczym.

Jednak, jak wynika z nowszych doniesień m. in. S m i t h a i M o r t o n a (1951) oraz D u m o f f a i D u f f y (1951), wzrost postaci **L** i podobnych do nich *Borrelomycetaceae* (zarazki z grupy *pleuropneumonii*) występuje również na pożywkach z dodatkiem cholesterolu, skrobi, glikogenu lub określonych frakcji surowicy.

Przypuszczam więc, że słuszny jest pogląd K l i e n e b e r g e r - N o b e l oraz że postacie **L** i uprzednio opisywane formy przesączalne (gonidialne) bakterii są formami regeneracyjnymi o różnym stopniu dedyferencjacji i ustalenia.

Oczywiście większe znaczenie mają współczesne badania, potwierdzające cykl: pałeczka → ciało kuliste → postać **L**.

Tworzenie ciał kulistych stwierdzili: P r i t w i t z (1953) u *Proteus*, E i s e n s t a r k et al (1950) u *Azotobacter*, J o h n s o n i G r a y (1949) u *Photobacterium* i *Achromobacter*, D u g u i d (1948) u *Aerobacter*, K r a s i l n i k o w (1953) u azotobaktera, mykobakterii i promieniowców.

Podobne ciała kuliste u krętków znaleźli W y c k o f f, H a m p p i S c o t t (1950).

Wielokrotnie też obserwowano cały cykl z wytworzeniem postaci **L**. Wymienimy tu tylko badania S m i t h a, H i l l i e r a i M u d d a (1948 b) nad *B. funduliformis*, wykonane za pomocą mikroskopu elektronowego.

Freundta (1950), Stempena i Hutchinsona (1953), Smitha i Mortona (1951) Prévota i Raynoud (1948), Poetschkego (1953) nad maczugowcami, Raettiga (1953), Warbasse i Johnsona (1950), Carrere i Roux (1953), Pulvertafta (1950).

W zasadzie zgodne z opisem cyklu L są liczne obserwacje badaczy radzieckich (np. Żółkiewicz 1952).

Różnice dotyczą jedynie szczegółów i terminologii. Np. wielkie ciała kuliste znane są w literaturze radzieckiej pod nazwą komórek olbrzymich („gigantskije kletki"), ziarenkowate postaci L jako ciałka regeneracyjne, chromatynowe ciałka, pozabakteryjna substancja białkowa itd.

Okazało się również, że mechanizm powstawania postaci kulistych może być bardziej skomplikowany, niż zdawało się pierwotnie.

Już Dienes i Klieneberger zauważyli, że tworzeniu ciał kulistych towarzyszą przemiany substancji jądrowej, w wyniku czego powstają wielonukleoidowe twory.

Według Dienesa ciała kuliste *B. funduliformis* powstają często przy zetknięciu się dwóch pałeczek, u *Proteus* - na styku dwóch rozpełzających się kolonii, u innych bakterii - z pętli nici bakteryjnej.

Ostatnio Stempen i Hutchinson (1953) opisali proces łączenia się dwóch pałeczek i powstawanie w wyniku takiej „kopulacji" - ciała kulistego. Potwierdził to w badaniach cytologicznych nad *B. megatherium* De Lamater (1953).

Wyciąganie zbyt daleko idących wniosków z tego rodzaju odosobnionych obserwacji nie wydaje się usprawiedliwione. Niemniej jednak w powiązaniu ze stwierdzonymi faktami hybrydyzacji nabierają one pewnego znaczenia. Do problemu tego wrócimy jeszcze w rozdziale X.

Sposób powstawania postaci L z ciał kulistych bywa różny. Według Dienesa odbywa się to drogą pączkowania, według badaczy francuskich formy ziarenkowate tworzą się wewnątrz ciał kulistych. Krasilnikow (1953) obserwował oba przypadki u jednego szczepu bakteryjnego.

Interesująca jest sprawa stosunku postaci L do *Borrellomycetaceae* Większość badaczy traktuje je jako zupełnie podobne i w pewnym stopniu spokrewnione. Odmienne stanowisko zajmuje pod tym względem Orskov (1947) i Freundt (1950). Według nich zarazki *pleuropneumonii* charakteryzują się wzrostem mycelialnym, opisywanym zresztą też przez Wróblewskiego (1931), nie spotykanym u postaci L.

Na bliski związek między formami L i *Borrellomycetaceae* wskazują jednak np. prace Sabina (1941) oraz Smitha, Hilliera i Mudda (1948 a) nad pleuropneumonio-podobnymi organizmami.

Przemawiają za tym liczne już dziś fakty wyosobniania z organizmu ludzkiego i zwierzęcego, a szczególnie z dróg moczopłciowych, drobnoustrojów podobnych pod wieloma względami zarówno do postaci L, jak i do zarazków *pleuropneumonii* (np. Dienes, Smith, Hillier i Mudd 1948 a, Theiss 1943, Brueckner i Sherman 1932).

W nielicznych przypadkach udało się wyizolowane z organizmu postacie L przeprowadzić *in vitro* w formę bakteryjną. Np. Poetschke (1953) z postaci L z dróg moczopłciowych otrzymał dyfteroidy.

Zagadnienie komplikuje fakt patogenności zarazków *pleuropneumonii* i pokrewnych im zarazków bezmleczności kóz, podczas gdy postacie L bakterii są z zasady apatogenne.

Z badań Wittler (1952) wynika, że postać L *Haemophilus pertussis* po wprowadzeniu do organizmu wrażliwej na zakażenie myszy przechodzi w formę bakteryjną, natomiast u myszy uodpornionej bakterie przechodzą z powrotem w postać L.

Zarazek *pleuropneumonii* mógłby więc być przystosowaną do pasożytnictwa formą L, która utraciła zdolność rewersji do postaci bakteryjnej.

Z problemem tym łączy się sprawa stosunku postaci L do saprofitycznych przesączalnych pleuropneumonio-podobnych organizmów Seifferta (1937 a, b) oraz Laidlowa i Elforda (1936), prawdopodobnie identycznych z sobą (Ørskov 1938).

Za tym, że drobnoustroje Seifferta mogą w rzeczywistości być postaciami L jakichś bakterii, przemawia, poza podobieństwem morfologicznym, obserwacja samego Seifferta (1937 b), według której dodatek LiCl do materiału badanego skraca czas potrzebny na wyhodowanie mikroorganizmów z paru tygodni do dwóch dni.

Przypuszczenie Seifferta, że lit stymuluje w tak silnym stopniu rozmnażanie wykrytych przez niego bakterii, jest zupełnie nieuzasadnione. Prawdopodobniejsze wydaje się, że lit wywołuje przemianę bakterii w postać przesączalną.

Mimo wielu luk w obserwacjach i wielu jeszcze punktów spornych, nie ulega już dziś wątpliwości, że ciała kuliste i postacie L są formami rozwojowymi.

Spotykane w literaturze opisy wykazujące, że ciała kuliste niekiedy ulegają nekrobiozie i rozpadowi (Tulasne et al 1949, Vacirca 1947, Ørskov 1947, Pietschmann i Rippel 1933, Imszeniecki 1948, Sołncewa 1953, Drbohlav 1933), nie przeczą temu, że w innych przypadkach są one formami rozwojowymi.

Przemiana postaci w procesie patologicznym może niekiedy naśladować pewien odcinek cyklu rozwojowego. Wypadki takie nie są nieznane, a u bakterii, z uwagi na prostotę budowy, tym bardziej możliwe.

Zastanówmy się obecnie, jakie miejsce przydzielić zjawiskom zmienności, określonym tu jako cykl L.

Na wstępie należy wyraźnie odgraniczyć to zagadnienie od licznych swego czasu teorii cyklogenii (Almquist 1925, Enderlein 1925, Löhnis i Hanzawa 1914, Löhnis i Smith 1916, Löhnis 1921) oraz poglądów neopleomorfistów (Boszjan 1950, Bieruława 1951, Schanderl 1953).

Poglądy te spotkały się za słuszną krytyką, która wykazała ich niezgodność z faktami i błędy teoretyczne (np. Zilber 1953, Żumatow 1953, Stapp 1953, Mamacaszwili 1954 i wielu innych).

Zauważmy, że przemiana L zaczyna się wówczas, gdy przeżycie bakterii, wskutek głęboko sięgających zmian środowiskowych, staje się niemożliwe w ramach normalnego cyklu heteromorfozy.

Wielofazowa potencjalnie bakteria przechodzi wówczas w najprymitywniejsze, zdedyferencjonowane, embrionalne stadium — w postać L.

Podobnie w istocie interpretują to Mellon 1926, Hadley 1927, Eisenberg 1931, Smith, Hillier i Mudd 1948 b, Dienes i Weinberger 1951, Kalina 1953.

Mellon (1926) uważa pełny cykl przemian bakterii za równoważny z ontogenezą organizmu tkankowego, a postać bakteryjną jedynie za „ustabilizowaną fazę ontogenezy wielofazowego organizmu".

Hadley (1927) wyraźnie pisze: „pewnego rodzaju ontogenezą dla osobnika bakteryjnego jest postępowy rozwój przez fazy G, S i R".

Kalina (1953) traktuje cały cykl przemian jako ontogenezę, przemiany zaś form przesączalnych jako embriogenezę bakterii.

Potencjalna wielofazowość bakterii znalazła potwierdzenie w obserwacjach mikroskopowych Hughesa (1952), zgodnie z którymi w normalnej, młodej hodowli *E. coli* około 3% komórek przechodzi w postać L.

Nie znamy dziś dokładnie natury czynników indukujących tę przemianę, ale widoczne jest, że zdolność do tej przemiany jest wrodzona.

Pogląd niektórych badaczy (np. Krasilnikowa 1954), jakoby traktowanie poszczególnych faz jako stadia rozwojowe miało zaprzeczać ewolucji, trudno uznać za słuszny.

Wielofazowość organizmu nie przeczy ewolucji, a zmienność gatunkotwórcza może zachodzić równolegle z cyklem przemian.

Oczywiście, że proces zmienności ewolucyjnej zachodzi w całym cyklu heteromorfozy, przy czym pewne fazy tego cyklu, a szczególnie faza involucyjno-regeneracyjna, zdedyferencjonowana, łatwiej podlega tego rodzaju zmienności.

Ilustracją tego byłyby wzmiankowane wyżej przypadki, gdy przy rewersji z form przesączalnych otrzymywano szczepy bakteryjne odmienne od macierzystych.

Podkreślamy jednak jeszcze raz, że nie każdy czynnik zewnętrzny i nie każda wywoływana przezeń zmiana mają znaczenie gatunkotwórcze.

Organizmom żywym właściwa jest zarówno zmienność, jak i pewna stałość dziedziczność. Obie właściwości są oczywiście względne, ale tylko dzięki nim możliwa jest ewolucja, odbywająca się poprzez jakościowo różne etapy, tj. gatunki.

Istoty żywe muszą posiadać zatem i posiadają nie tylko właściwość podlegania zmianom, ale również zachowywania i przekazywania potomstwu cech.

Względne ustalenie cech, dziedziczne przekazywanie gatunkowych własności jest u bakterii, niemal pozbawionych mechanizmów regulacyjnych a zatem zupełnie zależnych od środowiska, możliwe właśnie dzięki potencjalnej wielofazowości, dzięki przemianie fazy bez naruszenia istotnych cech gatunkowych.

W przeciwnym razie gatunek bakteryjny byłby zupełną fikcją.

Czy przemiany takiego wielofazowego organizmu, jak bakteria, mamy prawo uważać za odpowiednik ontogenezy?

Zdaniem moim tak, szczególnie o ile przypomnimy sobie rozważania nad indywiduum u bakterii (rozdz. III).

Zastosowanie do bakterii prawa biogenetycznego, sformułowanego akurat 80 lat temu przez Haeckla w jego *Teorii gastrei*, może się okazać niesłychanie płodne.

Jeśli w ontogenezie bakterii występuje stadium bardzo proste, przesączalne, bezkomórkowe, to czy nie jest ono powtórzeniem jakiegoś stadium ewolucyjnego? O ile tak, to czy bakterie nie wywodzą się od tego rodzaju prymitywniejszych organizmów?

Podobne saprofityczne drobnoustroje znamy już. Są nimi postacie opisane przez S e i f f e r t a oraz L a i d l o w i E l f o r d a. Niektóre z tych prymitywnych istot mogą być bytującymi w naturze fazami regeneracyjnymi pewnych bakterii, inne mogą być jednak reliktami, „żywymi kopalinami", które przetrwały w przyrodzie do chwili obecnej.

Rozstrzygającej odpowiedzi na powyższe pytania nie możemy się jeszcze dziś spodziewać.

Samo postawienie pytania okazuje się jednak wielokroć niesłychanie cenne.

Nie obawiajmy się więc przyrodzie stawiać pytań, które dla solidnych, pedantycznych „urzędników" nauki mogą być szokujące.

Rozdział VI

ZMIENNOŚĆ WŁAŚCIWA, MODYFIKACYJNA CZ. I

„One may wonder whether the geneticist will not arrive too late to introduce his jargon into bacteriology".

D u b o s, 1946.

Przechodzimy obecnie do zasadniczego problemu — zmienności cech dziedzicznie ustalonych.

Przede wszystkim należy podkreślić, że stopień ustalenia cech może być bardzo różny.

Ponadto, gwoli jasności wyrażania się, zrezygnujmy z terminu „cechy nabyte", który ma wprawdzie duże zasługi w rozwoju biologii, ale z punktu widzenia nauki jest beztreściowy. Wszystkie cechy są „nabyte" i organizm nie ma cech „nienabytych", chyba że dopuścilibyśmy możliwość aktu stworzenia.

Zagadnienie nie brzmi więc: „czy cechy nabyte dziedziczą się czy nie". Pytanie tego rodzaju nie ma sensu i na próżno też oczekiwalibyśmy na nie odpowiedzi.

Problem należałoby sformułować, przynajmniej w stosunku do bakterii, następująco: *Jakie zmiany cech i przez jakie czynniki wywoływane dziedziczą się, a jakie nie?*

Zauważymy wówczas po pierwsze, że u bakterii pomiędzy zmianami dziedzicznymi a zmianami nie ustalonymi, ustępującymi natychmiast po ustaniu działania czynnika indukującego, nie ma ostrej granicy. Porządkując zmiany według stopnia ich ustalenia otrzymamy szereg ciągły, na którego jednym końcu mieścić się będzie „zmienność dziedziczna", na drugim — zmienność przemijająca.

Po drugie, okaże się, że nie ma nigdy zupełnego utrwalenia zmian, a zatem, że pojęcie zmiany czy cechy dziedzicznej, wrodzonej jest względne.

Po trzecie, przekonamy się, że zmienność cech dotyczy zmienności aparatu enzymatycznego.

Ilość obserwacji z tej dziedziny jest tak olbrzymia, że kuszenie się o przynajmniej częściowe wyczerpanie materiału bibliograficznego byłoby mierzeniem sił na zamiary, a co więcej, okazałoby się wysiłkiem zbędnym.

Z tych względów zjawiska zmienności adaptacyjnej rozpatrzymy na paru stosunkowo dobrze i wszechstronnie opracowanych przykładach.

Celem tego przeglądu nie będzie znalezienie ostatecznego wyjaśnienia mechanizmów zmienności, ale raczej krytyczna ocena niektórych hipotez, szczególnie hipotezy „mutacji spontanicznych", która rości sobie pretensje do tytułu jedynie naukowej.

Jako przykłady obrano zmienność dotyczącą zdolności do hydrolizy i wykorzystywania cukrowców, zmienność wrażliwości na antybiotyki oraz zmienność wrażliwości na bakteriofagi.

I. ZMIENNOŚĆ CZYNNOŚCI GLIKOLITYCZNYCH I KRYTYKA PRACY LEWISA (1934)

Spośród wielu zagadnień, dających się podciągnąć pod powyższe określenie, wybrałem jako przedmiot dyskusji problem *coli mutabile*.

Skłoniła mnie do tego ta okoliczność, że praca Lewisa (1934) nad *coli mutabile* jest powszechnie cytowana w literaturze zachodniej jako eksperymentalny dowód, że zmienność tego rodzaju jest „mutacją spontaniczną".

Powołania takie znajdujemy, np. u Catchside'a (1951), Stephenson (1949), Dubosa (1947), Monod (1947) i innych.

Ponadto dyskusja nad *coli mutabile* daje sposobność omówienia innych przypadków zmienności enzymatycznej u bakterii i rozpatrzenia wielu związanych z tym hipotez.

Wreszcie rozpatrzenie tego zagadnienia pozwala na uzmysłowienie sobie, jak dalece skomplikowany jest mechanizm przemian biochemicznych i wzajemnych powiązań procesów enzymatycznych i jakim karykaturalnym uproszczeniem i zniekształceniem tego bogactwa zjawisk jest schemat genetyczny.

Ten typ zmienności pierwszy zaobserwował Massini (1906) i jemu oraz jego nauczycielowi Neisserowi (1907) zawdzięczamy pierwszy opis.

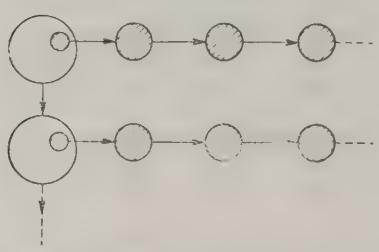
Zjawisko polega na tym, że na pozór niczym nie różniąca się od innych jej podobnych pałeczka z grupy *coli* nie fermentująca laktozy zachowuje się na podłożach w sposób zupełnie swoisty.

Wysiana na podłoże Endo tworzy, tak jak i inne pałeczki nie rozkładające cukru mlekowego, białe kolonie. Po paru dniach (2 — 3) na powierzchni białych kolonii pojawiają się guzki — wtórne kolonie, zabarwione na kolor czerwony, a więc składające się z bakterii fermentujących laktozę. Rzeczywiście, bakterie przesiane z czerwonych guzków rozkładają laktozę, podobnie jak normalne szczepy *coli*.

Massini, dokonując przesiewów na podłoże Endo z czerwonych guzków, otrzymywał wyłącznie kolonie czerwone (fermentujące), natomiast przeszczepy z kolonii białych dawały kolonie białe, na których po paru dniach występowały czerwone guzki (rys. 11).

Nie fermentująca laktozy pałeczka stale zatem wytwarzała odmianę zdolną do fermentowania cukru, przy czym ta nowa cecha okazała się dziedzicznie ustaloną.

Neisser uważał to za przykład zmienności skokowej, mutacyjnej, lecz swoiście indukowanej przez laktozę. W związku z tym pisał: „Das Bakterium passt sich einem neuen Lebenswesen an. Es ist dabei ganz erklärlich, dass diese neue Art nur auf Milchzucker entsteht und nicht durch allgemeine Einflüsse herbeigeführt werden kann".



Rys. 11 Schemat zmienności u *B. coli mutabile*.
Koła duże białe — kolonie nie fermentujące laktozy Koła duże zakreskowane — kolonie fermentujące laktozę. Małe koła czarne — guzki fermentujące laktozę. Strzałki oznaczają przesiewy

Podlegającą takiej zmienności pałeczkę nazwano *Bacterium coli mutabile,* podkreślając tą nazwą jej zdolność do ciągłego tworzenia mutantów

Wkrótce opisano więcej podobnych przypadków (Burk 1908, Sauerbeck 1909, Benecke 1909, Müller Reiner 1909, Hübner 1909, Sobernheim i Seligmann 1909).

Na bliższą wzmiankę zasługuje praca Müllera.

Badając większą ilość szczepów z grupy *coli* i *Salmonella* stwierdził, że tego rodzaju zmienność jest bardzo częsta. Ponadto jednak zauważył też nieco inny rodzaj zmienności (Müller 1911). Mianowicie wzrost szczepu *S. typhi,* tworzącego kwas i gaz z ramnozy, był hamowany na podłożach bulionowych przez ramnozę. Na agarze z tym cukrem powstawały kolonie karłowate.

Szczep ten tworzył w podobny sposób jak *coli mutabile* odmianę, tylko że tym razem owa odmiana nie fermentowała ramnozy i na jej wzrost ramnoza nie wywierała żadnego wpływu.

Kierunek zmienności w obu przypadkach był więc przeciwny.

Zjawisko to — pozornie odmienne od zmienności *coli mutabile* – jak się okaże w dyskusji, może pomóc nam w rozszyfrowaniu mechanizmu zmienności.

Z późniejszych prac (Pringsheim 1910, Burri i Düggeli 1909, Burri 1910, Baerthlein 1912, Smith 1913), godne uwagi są prace Burri'ego i Baerthleina.

Pierwszy z nich opisał *coli mutabile*, u którego zmienność dotyczyła jednak nie zdolności do fermentacji laktozy, lecz sacharozy , oraz *coli imperfectum,* nie rozkładające ani laktozy, ani sacharozy, dające natomiast zdolne do fermentacji odmiany. Burri określał obserwowaną zmienność, podobnie jak Neisser, jako mutację, ale kierunkowo indukowaną.

O tym, że jest to zmienność indukowana przez czynnik środowiskowy, przekonało Burriego następujące doświadczenie. Zawiesiny bakteryjne o wzrastającej ilości bakterii na 1 ml (od 10^2 do 10^7) wsiewał do rozpuszczonego agaru z sacharozą i sporządzał hodowle słupkowe, głębokie.

Zauważył przy tym, że niezależnie od ilości wsianych bakterii w hodowli tworzy się zawsze 30 — 100 kolonii dużych, zawierających bakterie fermentujące sacharozę, i pewna ilość (zależna od liczby wsianych komórek) kolonii punkcikowatych nie fermentujących cukru. Nie ma tu zatem mowy

o żadnej stałej „częstotliwości mutacji" (mutation-rate). Przy wsiewie małych ilości bakterii wszystkie wytwarzały duże kolonie.

Dodatkowe badania pozwoliły B u r r i e m u stwierdzić, że nowa cecha narasta stopniowo. Czym starsza była „duża" kolonia, z której dokonano przesiewu na płynną pożywkę z sacharozą, tym prędzej następowała tam fermentacja.

Ponadto okazało się, że „duże" kolonie składają się jedynie z bakterii fermentujących sacharozę. Ta ostatnia okoliczność, ze względu na późniejsze zastrzeżenia L e w i s a, jest specjalnie ważna.

B a e r t h l e i n (1912) badał 13 szczepów *coli mutabile*, posługując się zamiast podłożem Endo pożywką Drigalskiego. Tworzenie czerwonych guzków zaobserwował na trzeci dzień hodowli. Ciekawe, że przepasażowanie badanych szczepów przez myszy spowodowało przyspieszenie procesu zmienności — guzki tworzyły się już po 24 godzinach.

Badacz ten stwierdził, że po dłuższym przechowywaniu płytek w termostacie może nastąpić rewersja. Nieliczne „czerwone" kolonie z powrotem przechodzą w „białe", nie fermentujące.

Zmienność *coli mutabile* stara się tłumaczyć B a e r t h l e i n jako „atawizm".

Lata następne przyniosły szereg nowych opisów *coli mutabile*.

Interesująco przedstawia się jednak tylko praca S t e w a r t a (1926 a, b). Sądzi on, że *coli mutabile* jest heterozygotą. Cechę fermentowania cukru oznacza jako F, brak tej cechy — f. Literą I oznacza obecność czynnika hamującego fermentację, literą i — brak tego czynnika. Formułę dla *coli mutabile* wyobraża sobie *Stewart* jako IiFF. Przy rozszczepianiu powstają z tego: ii FF (nie rozszczepiająca się homozygota zdolna do fermentacji), heterozygota IiFF identyczna z macierzystym szczepem oraz homozygota nie fermentująca IIFF. Ponieważ doświadczalnie nie udało się stwierdzić homozygoty IIFF, S t e w a r t tłumaczy to hamowaniem jej wzrostu przez szczepy heterozygotyczne.

Hipoteza S t e w a r t a nie jest sprzeczna z doświadczeniem. Ma natomiast inną wadę, która wystarcza, żeby ją zdyskwalifikować — mianowicie jest niesprawdzalna. Zaplanowanie i wykonanie eksperymentu, który by dał możność jej potwierdzenia lub zaprzeczenia, nawet za pomocą dziś już znanej techniki hybrydyzacji bakterii wg L e d e r b e r g a i T a t u m a, jest nieosiągalne.

Hipoteza naukowa musi nie tylko nie być sprzeczna z wynikami doświadczeń, powinna być ponadto sprawdzalna, tzn. powinno być możliwe takie zaplanowanie eksperymentu, aby wynik pozwolił na wybór spośród alternatywnych tłumaczeń tego, które jest tożsame z założoną hipotezą. O tym warunku bardzo często zapominają genetycy, uważając „niesprzeczność" z doświadczeniem za dowód prawdziwości założenia.

W pracy swej S t e w a r t podaje jednak parę bardzo cennych obserwacji. Po pierwsze — podkreśla, słusznie zresztą, różnicę, jaka zachodzi pomiędzy zmiennością *coli mutabile*, stale się powtarzającą, a rzadko i sporadycznie pojawiającą się zmiennością skokową (mutacją) u innych szczepów.

Po drugie zauważył on, że zmiana typowa dla *coli mutabile* może dotyczyć dwóch cech. Np. jego szczepy 3453, JR506, 508, FMG, tworzą guzki.

różniące się od macierzystych kolonii zdolnością do fermentowania dwóch substancji (laktozy i dulcytu lub laktozy i sacharozy).

Po trzecie — przy wysiewie *coli mutabile* na agar bez cukru również znajdował guzki — wtórne kolonie. Otóż, jak twierdzi Stewart, guzki te składają się wówczas z bakterii nie fermentujących laktozy, podobnie jak reszta kolonii. Guzki fermentujące laktozę powstają wg niego tylko na podłożach z tym cukrem.

Po czwarte — przy rzadkim posiewie na podłoże cukrowe można zauważyć, że po dłuższej inkubacji wszystkie „białe" kolonie zaczynają słabo różowieć.

Z polskich bakteriologów przypadki zmienności typu *mutabile* opisywali: Padlewski (1928) i Gieszczykiewicz (1933 a, b).

Zagadnienie *coli mutabile* po ośmioletniej przerwie w badaniach nad tym typem zmienności podjął Lewis (1934), tłumaczący ją podobnie jak uprzednio Smith (1913), Havens i Irwin (1932) i Salzman (1914) — za pomocą teorii „mutacji spontanicznych".

Praca jego jest, jak już wspomniano, ważna przede wszystkim dlatego, że została uznana przez większość mikrobiologów zachodnich za eksperymentalny dowód, iż „spontaniczne mutacje" są zasadniczym i jedynym mechanizmem tłumaczącym zmienność aparatu enzymatycznego bakterii.

Rozpatrzeniem możliwych procesów prowadzących do powstawania zmian ustalonych zajmiemy się później, tu natomiast zastanowimy się jedynie nad tym, jak dalece uzasadnione są wnioski wyciągane z pracy Lewisa.

Materiałem badań Lewisa było 27 wyosobnionych przez niego szczepów *Escherichia, Salmonella paratyphi, S. typhi* i *Aerobacter cloacae*, zachowujących się w stosunku do jednego z węglowodanów (laktoza, rafinoza, ramnoza, sacharoza) jak *coli mutabile*.

Niemal wszystkie badane szczepy *coli* nie wytwarzały kwasu z laktozy, lecz rosły na syntetycznej pożywce Fraziera i Ruppa z laktozą jako jedynym źródłem węgla, tworząc na niej taką samą ilość kolonii, jak na agarze odżywczym. Większość szczepów rosła na pożywce syntetycznej w postaci dużych kolonii, tylko cztery szczepy dawały małe kolonie, podobne do kolonii paciorkowców.

Oba typy na podłożach z laktozą wytwarzały kolonie wtórne, przy czym w typie „małych" kolonii wtórne były duże, w typie „dużych" — na odwrót, wtórne były punkcikowate.

Lewis nie badał bliżej tego zjawiska, wydaje się jednak, że tworzenie wtórnych małych kolonii na agarze z laktozą jest przypadkiem analogicznym do obserwowanego przez Müllera (1911) (patrz str. 246) hamowania przez cukier wzrostu odmiany szybko go fermentującej.

Dokładniejszej analizie poddał Lewis jedyny szczep, który zupełnie nie zużywał laktozy i nie rósł na pożywce syntetycznej z tym węglowodanem.

Na płynnych pożywkach szczep ten zaczynał fermentować laktozę po 36 godzinach, na stałych — tworzył wtórne kolonie, fermentujące laktozę już po 24 godzinach.

Chcąc określić, jak często powstaje odmiana fermentująca, Lewis wysiewał różne rozcieńczenia zawiesiny bakterii, spłukanych z agaru od-

żywczego i z agaru syntetycznego z glukozą, na: agar odżywczy, agar syntetyczny z glukozą i agar syntetyczny z laktozą. Stwierdził przy tym, że na pożywce syntetycznej z laktozą wzrost daje jedynie najmniejsze rozcieńczenie (od 1 : 10^5) oraz że osobniki fermentujące i wykorzystujące laktozę pojawiają się w populacji ze stałą częstością równą 1 : 10^5.

Ilustruje to niżej zamieszczona tabela wzięta z pracy Lewisa; wysiewu dokonywano za pomocą różnych rozcieńczeń zawiesiny sporządzonej z pojedynczych kolonii, spłukanych z rzadko zasianych płytek z agarem odżywczym.

Ilość bakterii na 1 ml zawiesiny, obliczona na podstawie podliczenia kolonii na:

Nr kolonii	agarze syntet. z laktozą	agarze syntet. z glukozą	agarze odżywczym
I	II	III	IV
1	6300	3 420 000 000	3 540 000 000
2	3300	1 640 000 000	1 610 000 000
3	2900	710 000 000	730 000 000
4	2200	860 000 000	840 000 000
5	2080	1 100 000 000	1 200 000 000

Stosunek cyfr z kol. II do cyfr z kol. IV wynosi rzeczywiście zawsze *ca* 1 : 10^{-5}.

Podobny stosunek ilości osobników fermentujących do ogólnej ilości bakterii otrzymał Lewis hodując uprzednio bakterie na podłożu syntetycznym z glukozą oraz na pożywkach o różnej zawartości peptonu (0,01, 0,1 i 1,0%).

Lewis sądził zatem, że udało mu się wykazać: 1) iż odmiana fermentująca pojawia się również w hodowlach nie zawierających laktozy, 2) że częstość pojawiania się tej odmiany jest stała, niezależna od składu podłoża i że wynosi *ca* 1 : 10^5.

Na tej podstawie dochodzi do wniosku, że jest to zmiana niezależna od środowiska, a zatem powinna być określona jako „mutacja spontaniczna".

Rozpatrzmy wobec tego, o ile wnioski Lewisa są uzasadnione wynikami jego własnych doświadczeń.

Po pierwsze, Lewis nie wykluczył możliwości zachodzenia adaptacji na płytkach z laktozą.

Jest rzeczą znaną, że nawet na pożywkach nie zawierających przyswajalnych dla danej bakterii związków węglowych bakteria ta daje wzrost w postaci mikrokolonii.

Ryan (1952) stwierdził powstawanie takich mikrokolonii, przy czym podziały komórek następowały w nich bardzo rzadko — co 16 godzin.

W okresie tego wstępnego bardzo powolnego wzrostu mogła zajść adaptacja w normalnych komórkach już po wysianiu materiału na płytki z laktozą.

Fakt, że w rezultacie tylko mała część komórek dała obfity wzrost odmiany fermentującej, również nie wyklucza adaptacji.

Jak słusznie zauważył Hinshelwood (1946, 1949 oraz Jackson i Hinshelwood 1949), w warunkach podobnego doświadczenia zachodzi pewnego rodzaju wyścig między procesem adaptacji a procesem zamierania lub zupełnego zahamowania funkcji metabolicznych.

Nawet najbardziej jednorodna populacja bakteryjna składa się z osobników znajdujących się w różnym stanie fizjologicznym, różniących się znacznie między sobą (patrz rozdz. VIII).

Nie wykluczone zatem, że tylko w niewielkiej ilości komórek proces adaptacji, zwolniony w tym przypadku wskutek zwolnionego wzrostu, zdążył dobiec do końca przed zupełnym ustaniem wszelkich przemian metabolicznych.

Oczywiście, nie wykazaliśmy bynajmniej, że w konkretnym przypadku nie zachodziła „mutacja spontaniczna", lecz jedynie to, że teoria adaptacji równie dobrze tłumaczy fakty obserwowane przez Lewisa.

Po drugie, obserwacja Lewisa, zgodnie z którą ilość osobników odmiany fermentującej jest stała, nie tylko nie jest w tym przypadku oparciem dla teorii mutacji spontanicznych, ale jest z nią wprost sprzeczna!

Mianowicie konsekwencją założenia, że odmiana pojawia się wskutek spontanicznej mutacji, jest przyjęcie stałego zwiększania się odsetka komórek zmienionych w danej populacji.

Okoliczność ta została zresztą podkreślona przez Lurię i Delbrücka (1943), a fakt zwiększenia się w populacji względnej ilości osobników zmienionych uznali oni za dowód „spontaniczności" mutacji (dyskusja nad pracami Luriia i Delbrücka zamieszczona jest w rozdz. VIII).

Ilość komórek zmienionych będzie rosła znacznie szybciej niż ogólna ilość komórek, gdyż przyrost ich będzie pochodził zarówno z podziału, jak i z ciągłej mutacji komórek „normalnych". Proste obliczenie wykaże, że o ile mutacja pojawia się raz na 10^5 komórek lub nawet raz na 10^5 podziałów — to w populacji o 500.10^6 — 1000.10^6 osobników ilość zmienionych komórek powinna wynosić już nie $1 : 10^5$, lecz więcej niż $1 : 10^4$. Wzrost odsetka komórek zmienionych ustałby dopiero wówczas, gdyby ilość „mutacji powrotnych" wzrosła i zrównoważyła proces mutacji.

Ponieważ ze wszystkich obserwacji nad *coli mutabile* wynika, że odmiana fermentująca jest stosunkowo bardzo stała, zatem tego rodzaju „powrotna mutacja" musiałaby być wyjątkowo rzadka, a równowaga powinna się ustalić dopiero wtedy, gdy większość bakterii w populacji będzie odmianą fermentującą.

Ustalenie równowagi pomiędzy odmianami fermentującą i nie fermentującą na poziomie $1:10^5$ byłoby więc możliwe, gdyby odmiana fermentująca rozwijała się znacznie wolniej lub gdyby jej wzrost był hamowany przez formę nie fermentującą.

Przeczą temu jednak obserwacje Brysona (1953), według których odmiany fermentujące laktozę w hodowlach nie przewietrzanych przerastają odmiany niefermentujące.

Ponadto nikt spośród zajmujących się problemem *coli mutabile* nie zauważył, aby odmiana fermentująca rozmnażała się wolniej. Przeciwnie, zarówno Stewart (1926 a), jak i Ryan (1952), prowadząc hodowle sztucznie mieszane, złożone z odmian fermentującej i nie fermentującej

coli mutabile, wykazali, że szybkość rozmnażania obu typów jest w przybliżeniu jednakowa.

Powyższa analiza upoważnia nas do stwierdzenia, że doświadczenia L e w i s a dały wyniki sprzeczne z teorią mutacji spontanicznych.

Paradoksalność sytuacji polega jednak nie tylko na tym, że wyniki te, przyjmując za dobrą monetę błędne wnioski autora, przytacza się jako „dowody" świadczące o „spontanicznym tworzeniu wszelkich wariacji, tyczących się zdolności do hydrolizowania węglowodanów".

Niektórzy zwolennicy teorii mutacji spontanicznych (np. C a t c h e s i d e 1951, N e w c o m b 1949), przytaczając pracę L e w i s a podkreślają wyraźnie, że wykonano ją na podstawie „metody fluktuacji" L u r i i i D e l b r ü c k a (1943). W rzeczywistości natomiast pracę tę wykonano według zupełnie innej metody, a rezultaty jej są sprzeczne z założeniami teoretycznymi obu późniejszych badaczy.

Sprzeczność w rozumowaniu L e w i s a dostrzegł prawdopodobnie R y a n, również zwolennik hipotezy spontanicznych mutacji, który w swej pracy nad *coli mutabile*, ogłoszonej w 1952 r., nawet się na niego nie powoływał.

Nie uchroniło to jednak i R y a n a przed trudnościami, wynikającymi z dążenia do wyjaśnienia obserwowanych przezeń faktów za pomocą „mutacji spontanicznych".

Tworzenie mikrokolonii przez odmianę nie fermentującą na podłożu syntetycznym z laktozą rzeczywiście nie wyklucza mutacji, ale, jak już zaznaczono, nie przeczy hipotezie adaptacji.

Dla rozstrzygnięcia kontrowersji adaptacja - mutacja obserwacja ta jest więc po prostu bezużyteczna.

W badaniach R y a n a, podobnie jak i L e w i s a, odsetek osobników zdolnych do fermentacji był stały i wynosił również $1 : 10^5$.

R y a n, nie mogąc wyjaśnić tego faktu za pomocą przyjętej przezeń hipotezy, uciekł się do dodatkowych założeń.

Przyjmuje mianowicie, że: 1) albo szybkość rozmnażania odmiany fermentującej jest mniejsza (co, jak widzieliśmy, jest niezgodne z wynikami eksperymentów), lub też 2) że w nieobecności laktozy przemiana odmiany nie fermentującej w fermentującą jest niekompletna.

Stanowisko takie jest faktycznie równoznaczne z przyznaniem słuszności hipotezie adaptacyjnej.

Istotnie stały stosunek ilości osobników fermentujących do ilości osobników nie fermentujących jest niewytłumaczalny w stosunku do *coli mutabile* przy przyjęciu „spontaniczności" mutacji.

Stosunek ten daje się natomiast łatwo wyjaśnić za pomocą teorii adaptacji. Przyjmijmy, że adaptacja zachodzi dopiero na pożywkach z laktozą, w okresie powolnego wzrostu odbywającego się przypuszczalnie kosztem wewnętrznych rezerw komórek oraz śladów przyswajalnych substancji w podłożu. W okresie tego powolnego wzrostu większość komórek stopniowo zamiera lub też przechodzi w stan anabiozy z zupełnym zahamowaniem metabolizmu.

Przyjmijmy dalej, że proces adaptacji przebiega z pewną określoną szybkością (co jest oczywiste) i że do dalszego rozmnażania zdolne są jedynie te komórki, w których proces przystosowania zostanie zakończony

przed ustaniem przemian metabolicznych (co jest również oczywiste i konieczne).

Okaże się wówczas, że w danej populacji tylko pewien określony odsetek osobników zaadaptuje się, pozostałe „nie zdążą" się przystosować.

Odsetek ten może być różny i tak samo może zbliżać się do cyfry $1:10^5$ jak i do każdej innej, zależnie od zdolności do adaptacji i przeżywania szczepu.

Odsetek ten będzie też w pewnych granicach stały niezależnie od ilości wsianych bakterii, a wahać się będzie jedynie u różnych szczepów.

Zarówno więc rezultaty badań Lewisa, jak i Ryana dają się lepiej wytłumaczyć przy założeniu, że zmienność bakterii zachodzi na drodze adaptacji, a nie w drodze spontanicznych mutacji.

Ryan próbuje ratować swoją koncepcję za pomocą dodatkowych doświadczeń nad *coli mutabile*, niezdolnym do syntezy tryptofany i zupełnie nie rosnącym na podłożach bez tego aminokwasu.

Szczep ten na podłożach syntetycznych z laktozą, lecz bez tryptofanu, nie tworzył odmian fermentujących. Jednak wbrew proponowanej przez Ryana interpretacji tego zjawiska fakt ten absolutnie nie przeczy hipotezie adaptacyjnej. Adaptacja jest możliwa tylko i jedynie w czasie rozwoju, jasne więc, że nie może odbywać się w komórkach nie rosnących, anabiotycznych.

Ponieważ, jak wykazali Englesberg i Stanier (1949), mutacje nie zachodzą też przy braku wzrostu, zatem ostatnia obserwacja Ryana staje się nieprzydatna jako podstawa do osądzenia słuszności jednej z hipotez.

Reasumując dyskusję nad pracami tyczącymi się *coli mutabile*, dochodzimy do następujących wniosków: 1) zgodnie z poglądem większości badaczy, *cukier swoiście indukuje przemianę odmiany nie fermentującej w fermentującą*, 2) *doświadczenia Lewisa i Ryana albo dały wyniki nie zaprzeczające hipotezie adaptacji, lub też dające się lepiej wytłumaczyć na jej podstawie;* odnosi się to szczególnie do obserwacji stałości odsetka zmienionych bakterii, niezależnego od wielkości badanej populacji, 3) powoływanie się na badania Lewisa, jako dowodzące spontaniczności mutacji, wynika z niedostatecznej analizy materiału faktycznego lub wprost z jego nieznajomości (Newcombe 1949, Catcheside 1951).

Dochodzimy więc do wniosku, że zagadnienie *coli mutabile* jest nadal nie rozwiązane, przy czym prawdopodobniejszy wydaje się adaptatywny charakter tej przemiany.

Sytuacja taka wynika w pewnej mierze ze stosowania w nauce o zmienności bakterii „żargonu genetyków" (Dubos 1946).

Założenie, że istnieje gen, od którego zależy zdolność do syntezy enzymu hydrolizującego, i że brak tego genu powoduje utratę zdolności do hydrolizy, niczego niestety jeszcze nie wyjaśnia i nie tłumaczy, tym bardziej że nawet zwolennicy powyższego poglądu nie są zgodni co do stosunku gen — enzym.

Jedni, jak na przykład Monod (1947), Monod et al (1948), uważają, że zdolność do fermentacji laktozy zależy od jednego genu, inni — na przykład Lederberg (1948) znajdują w *coli mutabile* aż sie-

dem różnych grup, różniących się między sobą mutacją siedmiu różnych genów.

L w o f f (1946) uważa za możliwe obarczenie jednego genu „rządzeniem" paroma enzymami.

Podobnie za wątpliwą i nie uzasadnioną zasadę uważa biochemik S e v a g (1950) zasadę: jeden gen — jeden enzym.

Tymczasem problemy należałoby formułować w języku biochemiczno-fizjologicznym, a wówczas dla wielu z nich łatwiej dałoby się znaleźć wyjaśnienie.

Wychodząc z powyższego założenia zastanówmy się, jakie mogą być przyczyny niezdolności do fermentowania jakiegoś cukru przez daną bakterię i jaki mógłby być mechanizm nabywania tej zdolności.

Przede wszystkim bynajmniej nie zawsze niezdolność do jakiejś reakcji równoznaczna jest z brakiem enzymu.

Przykładów podobnych znamy już dzisiaj sporo — na przykład wymagająca normalnie kwasu pantotenowego *Neurospora* zaczyna go syntetyzować z laktonu pantoylu i β-alaniny przy zmianie temperatury hodowli (W a g n e r 1949), nie tworząca zaś tryptofanu *Neurospora* zawiera w komórkach enzym syntezujący go z indolu i seryny (G o r d o n i M i t c h e l l 1949 — wg S e v a g 1950). Dla paciorkowca hemolitycznego kwas adenilowy jest niezbędnym czynnikiem wzrostowym w nieobecności CO_2, natomiast gdy ciśnienie cząstkowe dwutlenku węgla wzrośnie ponad 40 mm Hg związek ten jest tworzony endogennie (P a p p e n h e i m e r i H o t t l e 1940). Jeden ze szczepów *E. coli*, K-12, zachowuje się jak prototrof (prototrofem nazywamy drobnoustrój nie wymagający obecności w podłożu czynników wzrostowych i aminokwasów) na pożywce mineralnej z octanem, w obecności zaś glukozy wymaga dla wzrostu dodatku kwasu glutaminowego, asparaginowego, lizyny i proliny (U m b e r g e r 1954).

Zapotrzebowanie *E. coli* na czynniki wzrostowe jest znacznie większe w 44° niż w 37° (W a r e 1951), a w 37° większe niż w 25° (D a v i s 1950). Jeden ze szczepów termofilnego *Bacillus stearothermophilus* w 36° i 45° rośnie w nieobecności histydyny, metioniny i kwasu nikotynowego, w 55° zaś substancje te stają się niezbędnymi egzogennymi czynnikami wzrostowymi; inny szczep tego gatunku, odwrotnie, zwiększa zapotrzebowanie wzrostowe w temperaturze 36° (C a m p b e l l i W i l l i a m s 1953).

Neurospora, zdolna do syntezy ryboflawiny w temperaturze 25°, traci tę właściwość już przy podniesieniu ciepłoty do 28° (M i t c h e l l i H o u l a h a n 1946). Glukoza w pożywce mineralnej jest wykorzystywana przez *B. subtilis* w tlenowym procesie oddechowym, natomiast w obecności aminokwasów podlega fermentacji mlekowej (G a r y i B a r d 1952).

Podobnie u *coli mutabile* niejednokrotnie stwierdzano obecność laktazy w komórkach niezdolnych do fermentacji cukru mlekowego. Wprawdzie według dawniejszych prac (H e r s h e y i B r o n f e n b r e n n e r 1936, M o n o d 1947, M o n o d et al 1948) szczepy nie rozkładające laktozy miały nie zawierać odpowiedniego enzymu, jednak późniejsze badania dały wyniki zupełnie inne.

Tak więc Deere (1949), Deere et al (1949), Lederberg (1948), Ryan (1952), Dawis i Hinshelwood (1943) znaleźli laktazę lub inny odpowiedni enzym zarówno u odmiany fermentującej, jak i u nie fermentującej. W pewnych przypadkach wykazano nawet wpływ obecności laktozy (Deere 1939) lub temperatury hodowli (Lederberg 1948) na ilość enzymu w komórkach nie fermentujących.

Co więcej, Deere (1939) zauważył, że przemianie odmiany nie fermentującej w fermentującą nie zawsze towarzyszy zwiększenie ilości enzymu.

Wydaje się więc, że niemożność rozkładania laktozy u *coli mutabile* jest, przynajmniej w bardzo wielu wypadkach, powodowana nie przez niezdolność do syntezy enzymu, lecz przez nieprzepuszczalność błony.

Niekiedy znów przyczyny należałoby szukać w tworzeniu białka enzymatycznego o swoistej wrażliwości na pH lub temperaturę. Tłumaczyłoby to „nabywanie" zdolności do syntezy w zmienionych warunkach.

Wreszcie nie wykluczone, że brak wzrostu jakiegoś szczepu na pożywce syntetycznej z laktozą może wynikać nie z niezdolności bakterii do wykorzystania cukru, lecz z hamowania pewnych procesów syntezy, a przez to rozwoju. Na taką możliwość wskazują m. in. obserwacje Müllera (1911) oraz Umbergera (1954).

Zatem niefermentowanie cukru przez *coli mutabile* może być powodowane przez: 1) nieprzepuszczalność błony dla danego cukru, 2) brak lub odkształcenie przenośnika, za pośrednictwem którego substrat wnika do komórki (Barrett et al 1953), 3) brak odpowiedniego enzymu, 4) hamowanie enzymu lub enzymów, przy czym, jak się zdaje, stosunkowo najczęstsze są przypadki 1) i 2).

Oczywiście, że wobec różnych przyczyn niefermentowania cukru przez *coli mutabile* należy się spodziewać różnych mechanizmów zmienności.

W przypadku zupełnej nieprzepuszczalności błony dla laktozy trudno się spodziewać, aby nastąpiła prosta adaptacja. Czynnik nie wnikający, a zatem nie działający na wnętrze komórki, oczywiście nie może na nie oddziaływać.

Nie oznacza to naturalnie, aby przemiana miała być spontaniczna, ale jedynie to, że dany cukier nie może jej pobudzić.

Jeżeli przyczyną jest zakłócenie funkcji „przenośnika" lub niedostatek enzymu, cukier może działać swoiście indukująco.

Widzimy, że zjawisko jest o wiele bardziej skomplikowane, niż to zakłada, niczym zresztą nie poparta, hipoteza: jeden enzym — jeden spontanicznie zmieniający się gen.

Kończąc rozważania nad *coli mutabile*, podkreślę jeszcze raz, że „spontani zność" tej przemiany okazała się iluzją zbudowaną na błędnej interpretacji słusznych obserwacji i na dowolnych, nie sprawdzonych lub nawet niesprawdzalnych założeniach. Zebrany materiał faktyczny przemawia raczej za adaptacją — za kierunkową zmianą cechy, wywołaną przez swoisty czynnik indukujący.

Droga do rozwikłania tego problemu prowadzi nie przez statystyczne, choćby nawet najbardziej skomplikowane interpretacje, lecz przez pracownię biochemika i fizjologa, którzy by zbadali mechanizm zawiłych procesów enzymatycznych, ujawniających się nam jako zdolność lub niezdolność do fermentacji danego cukru.

2. INNE TYPY ZMIENNOŚCI FUNKCJI GLIKOLITYCZNYCH

Zmienność typu *coli mutabile* charakteryzowała się tym, że w obecności odpowiedniego czynnika wywołującego zachodziła stale mniej więcej ze stałą częstością.

Znamy jednak u drobnoustrojów i inne typy zmienności funkcji glikolitycznych, nie odznaczające się podobną regularnością.

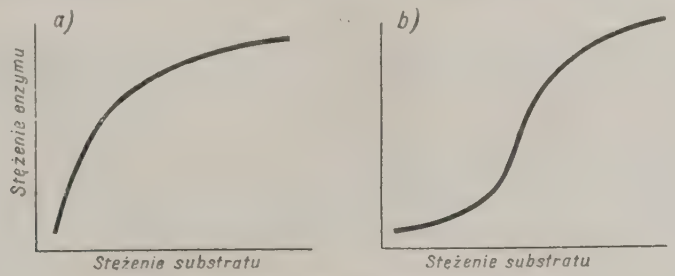
Oba te typy łączy w pewnym stopniu rodzaj zmienności określany jako „tworzenie enzymów adaptacyjnych".

Pojęcie to jest już dzisiaj znane powszechnie i stało się cząstką wiedzy „podręcznikowej". Dlatego też ograniczę się tu do przypomnienia, że obok enzymów stale występujących w komórce istnieją takie, które pojawiają się dopiero pod wpływem swoistego substratu. Pierwsze zostały nazwane przez K a r s t r ö m a (1930) enzymami konstytucyjnymi, drugie enzymami adaptacyjnymi.

Y u d k i n (1939) oraz S t e p h e n s o n (1949) tłumaczą to zjawisko następująco: w komórce występuje stale prekursor enzymu (*P*) w postaci cząsteczki białka połączonej z wytwarzającym ją enzymem *A*. W obecności substratu oddziałującego swoiście na prekursor następuje dysocjacja kompleksu *PA* i przemiana prekursora w enzym właściwy dla danego substratu. Jednocześnie enzym *A* wytwarza nową cząsteczkę *P*, z kolei zachodzi ponowna dysocjacja itd.

Hipoteza Y u d k i n a została od razu wykorzystana przez genetyków, którzy natychmiast postulowali odpowiedni gen kierujący syntezą prekursora *P* i oczywiście niezależność tego procesu od działania swoistego substratu.

Trudność jednak polega na tym, że tego rodzaju koncepcja nie daje się pogodzić z faktami.



Rys. 12 Zależność ilości powstającego enzymu od stężenia substratu.
Krzywe teoretyczne: a) przy założeniu, że enzym jest wytwarzany przez prekursor, b) przy założeniu, że enzym pomnaża się sam

Zakładając mianowicie, że syntezą enzymu z prekursora „rządzi" niezależny od substratu gen, musielibyśmy przyjąć, iż zależność pomiędzy ilością wytworzonego enzymu a stężeniem substratu powinna przybrać graficzną formę krzywej „*a*" (rys. 12) (S p i e g e l m a n 1945, 1946).

Tymczasem w rzeczywistości zależność ta daje się przedstawić graficznie w postaci krzywej *„b"*.

Spiegelman (1945, 1946) zwraca uwagę, że krzywa *„b"* wskazuje na zależność ilości enzymu nie tylko od stężenia substratu, lecz również od liczby już istniejących cząsteczek enzymatycznych. Na tej podstawie wyciągnięto wniosek (Spiegelman 1945, 1946, Lindegren 1945), że enzym jest cząsteczką samopomnażającą się.

Takie cytoplazmatyczne samopomnażające się makromolekuły Spiegelman nazwał plazmagenami.

Pojęcie samopomnażającego się, lecz „inicjowanego" przez gen jądrowy plazmagenu stworzono nie tylko dla wytłumaczenia wyżej omówionej zależności między ilością enzymu a stężeniem substratu, ale również w tym celu, aby wytłumaczyć szereg obserwacji nie dających się pogodzić z prostym schematem: 1 gen — 1 enzym.

Do zjawisk takich należy zaliczyć obserwowaną przez Spiegelmana (1946) przemianę nie fermentujących galaktozy drożdży w fermentujące, dotyczącą wszystkich komórek populacji.

Podobne wyniki dało doświadczenie Spiegelmana i Lindegrenów (1945) nad skrzyżowaniem nie fermentujących melibiozy *Saccharomyces cerevisiae* z adaptującymi się do tego cukru *S. carlsbergensis*. O ile kopulacja, zarodnikowanie oraz dysekcja worków odbywały się na podłożu z melibiozą, wówczas w pokoleniu F_1 wszystkie zarodniki dały klony fermentujące, bez spodziewanego rozszczepienia w stosunku 1 : 1 na fermentujące i niezdolne do fermentacji.

Spiegelman (1945, 1946, 1950) podkreśla też brak ostrej granicy między enzymami konstytucyjnymi i adaptacyjnymi. Również i ilość tych pierwszych zależy wyraźnie od stężenia substratu. Dość stałą ilość glukozymazy bez względu na skład podłoża można jego zdaniem — wytłumaczyć tym, że glukoza jako metabolit pośredni jest zawsze obecna w komórce.

Według niego w komórce stale istnieje potencja syntezy wielu enzymów, a o tym, który enzym jest w danych warunkach syntetyzowany, decyduje „operatywność" procesów syntezy, pośrednio zatem - warunki środowiskowe.

W ostatniej pracy (1950) Spiegelman jeszcze bardziej oddalił się od stanowiska genetyki klasycznej.

Opierając się na swych obszernych badaniach nad drożdżami, doszedł do sprzecznego ze stanowiskiem Lurii i Delbrücka (1943) wniosku, że w homogennej pod względem genotypowym populacji mogą pod wpływem warunków zewnętrznych pojawić się wariacje fizjologiczne ustalone dziedzicznie.

Skrytykował również pogląd Winge-Roberts (1948 — wg Spiegelmana 1950), według których powolne, stopniowe przystosowywanie się drożdży do fermentacji cukru miałoby wynikać z istnienia hipotetycznego „powolnego genu" *(slow gene)*, syntetyzującego dostateczną do przeprowadzenia widocznej reakcji ilość enzymu dopiero w ciągu 7 - 14 dni.

Ponieważ zaadaptowane już drożdże, przesiane na podłoże z danym cukrem, rozmnażają się bardzo szybko, proces ten musiałby wobec powolnej

syntezy enzymu doprowadzić do ponownego zmniejszenia ilości cząsteczek enzymu przypadającej na jedną komórkę. Inaczej mówiąc, przesianie zaadaptowanych drożdży na pożywkę z cukrem, w stosunku do którego zaszła adaptacja, musiałoby spowodować zanik adaptacji, co jest wnioskiem sprzecznym z doświadczeniem.

W konkluzji S p i e g e l m a n odrzuca możliwość „kontrolowania enzymów przez geny", a przyjmuje jedynie, że geny „określają możliwość tworzenia enzymów".

W takim ujęciu genu znika jako jego atrybut niezależność od środowiska i od metabolizmu komórki, a pozostaje tylko jego właściwość jako ośrodka korelującego i regulującego procesy syntezy białek, łączącego się więzami współzależności z innymi podobnymi ośrodkami jądrowymi i plazmatycznymi.

Dla wytłumaczenia mechanizmu tworzenia enzymów adaptacyjnych pojęcia genetyki nie są więc specjalnie przydatne. Podobnie jak w przypadku *coli mutabile*, tak i tym razem odpowiedniejsze okażą się sformułowania fizjologiczno-biochemiczne.

Utożsamianie enzymu z plazmatyczną cząsteczką samopomnażającą się (plazmogenem), jak proponuje to S p i e g e l m a n, trudno byłoby uznać za najlepsze wytłumaczenie.

Wszystkie dotychczas znane cząsteczki samopomnażające się (geny jądrowe, mitochondria, mikrozomy, plastydy, wirusy) są o wiele bardziej skomplikowane, posiadają większą drobinę i mają charakter nukleoproteidowy.

Natomiast białka enzymów hydrolitycznych nie są połączone z kwasami nukleinowymi i mają zgoła inny charakter chemiczny.

Z powyżej przytoczonych danych wynika jednak, że proces tworzenia enzymu adaptacyjnego ma charakter procesu autokatalitycznego (rys. 12, krzywa „b") oraz że wywoływany jest przez zadziałanie swoistym substratem.

Najprawdopodobniejsze wydaje się zatem przypuszczenie, że substrat (w danym przypadku jakiś węglowodan) oddziałuje bezpośrednio na plazmatyczny ośrodek syntezy białek, wiążąc się z nim dzięki pewnemu strukturalnemu dopasowaniu.

Pod wpływem takiego połączenia mogłaby nastąpić pewna modyfikacja w przestrzennej budowie cząstki samopomnażającej się, katalizującej syntezę drobiny białka (prekursora enzymu). Modyfikacja taka pociągnęłaby za sobą z kolei zmianę w charakterze syntezowanego białka (prekursora), dzięki której stałoby się możliwe jego reagowanie z substratem i swoiste nań oddziaływanie.

Łączenie się substratu ze zmodyfikowanym białkiem prekursora, mającym już własności swoistego enzymu, powodowałoby jego odczepienie od samopomnażającej się cząsteczki białkotwórczej. Jednocześnie dzięki uruchomieniu łańcucha procesów enzymatycznych o charakterze egzoergicznym wyzwalająca się energia zostałaby (choćby częściowo) zużyta dla pomnożenia ilości cząsteczek białkotwórczych.

Dałoby to w rezultacie przyrost ilości enzymu przebiegający tak, jak przedstawia to krzywa „b" na rys. 12.

Schematycznie bieg procesu można by było sobie wyobrazić następująco:

$$OP + S \rightarrow SO'P \rightarrow SO'P' \rightarrow O'P'S \rightarrow$$
$$\rightarrow O' + SP' \rightarrow S' + P' + e$$
$$O' + e \rightarrow nO' \rightarrow nO'P'$$
$$nO'P' + nS \rightarrow nSO'P' \text{ itd.}$$

lub

$$OP + S \rightarrow OP'S \rightarrow O + P'S$$
$$P'S \rightarrow P' + S' + e$$
$$O + e \rightarrow nO \rightarrow nOP$$
$$nOP + nS \rightarrow nOP'S \text{ itd.}$$

gdzie O oznacza samopomnażającą się cząstkę (ośrodek syntezy białka),
O' — zmodyfikowaną cząstkę O,
P — prekursor enzymu,
P' — enzym,
S — substrat enzymu P',
S' — produkt powstający z S pod wpływem enzymu P',
e — energię uwalniającą się w procesie zapoczątkowanym przez enzym P',
n — liczbę nowoutworzonych przez O (O') podobnych do niej cząsteczek.

Rzecz jasna, że cały postulowany tu łańcuch przemian może być stosunkowo szybko zrealizowany tylko wówczas, gdy pomiędzy strukturą przestrzenną drobiny substratu a jakimiś elementami powierzchni cząstki samopomnażającej się i drobiny prekursora istnieje pewne dopasowanie.

Zmiany takie jako niewielkie mogłyby w razie braku substratu ustępować. Inaczej mówiąc, w nieobecności substratu stalszą postacią byłaby forma nie zmodyfikowana O niż O'.

Doświadczenie też wykazuje, że adaptacja enzymatyczna o wspomnianym tu charakterze zachodzi w danym gatunku drobnoustrojów tylko w stosunku do pewnych określonych substancji oraz że jest tylko przejściowa.

Komórka posiada zatem pewną wrodzoną potencję do tworzenia enzymów.

Zrealizowanie tej potencji uzależnione jest od warunków środowiskowych, od obecności tych lub innych substancji.

Ta potencjalna, w różnym stopniu wyrażona zdolność do tworzenia enzymów również jednak może podlegać modyfikacjom.

Przykładem takich modyfikacji jest tak zwane trenowanie bakterii adaptowanie ich do substratów normalnie przez nie nie wykorzystywanych.

Oczywiście nie oznacza to, aby była możliwa adaptacja każdej bakterii do każdego substratu. Możliwości adaptacji danej bakterii nie są nieograniczone i uwarunkowane są strukturalno-funkcjonalnymi jej własnościami.

Powyższe tłumaczenie mechanizmu adaptacji enzymatycznej może się odnosić oczywiście do tych przypadków, gdy przyczyną pierwotnego braku

aktywności enzymatycznej jest brak zaczynu, a nie struktura błony półprzepuszczalnej.

O tym, że nieprzepuszczalność błony również może powodować pierwotną nieaktywność enzymu, świadczy doświadczenie Campbella et al (1951). Wykazali oni, że u *Pseudomonas aeruginosa* następuje na pożywce z octanem typowa adaptacja do kwasu cytrynowego, cis-akonitowego itd. Preparaty enzymatyczne, otrzymane z tych bakterii bez uprzedniej ich adaptacji, są zdolne do utleniania powyższych substancji od razu. Campbell uważa więc, że adaptacja w tym przypadku polega na zmianie w błonie cytoplazmatycznej, a nie we właściwym aparacie enzymatycznym.

W podobny sposób interpretuje takie fakty wspomniany już Barrett et al (1953), zakładając istnienie specjalnego przenośnika (*carrier*), przenoszącego substrat przez błonę, oraz uważając, że adaptacji podlega właśnie proces syntezy odpowiedniego przenośnika.

Omawiane dotychczas rodzaje zmienności funkcji glikolitycznych — typ *coli mutabile* i typ enzymów adaptacyjnych — mają pewne cechy wspólne.

W obu typach zmiany są nie tylko swoiste i kierunkowe, ale odznaczają się regularnością i stosunkowo dużą szybkością.

Zmiany te są wywoływane przez czynniki środowiskowe, ale regularność i szybkość ich przebiegu świadczy, że skłonność do tego rodzaju zmienności jest wrodzona i uwarunkowana czynnikami endogennymi. Tylko niektóre szczepy *coli* nie fermentujące danego cukru mają charakter *coli mutabile*, tylko niektóre szczepy bakterii mogą się adaptować do danego substratu.

Znamy jednak liczne przykłady zmienności, w których formy fermentujące pojawiają się o wiele wolniej i mniej regularnie, a stopień ustalenia dziedzicznego tych zmian jest bardzo różny.

Dziedziczne ustalenie takich zmian zależy w dużym stopniu od czasu, przez jaki działa na bakterie czynnik wywołujący.

Do takiego typu zmienności zaliczymy obserwowane jeszcze przez Tworta (1907) przykłady trenowania *Salmonella typhi*. Po wielu pasażach przez pożywki z laktozą pałeczka durowa zaczynała fermentować ten cukier. Nowonabyta cecha była jednak słabo ustalona dziedzicznie i po pewnej ilości przesiewów na podłożu bezcukrowym zanikała.

Potwierdził to m. in. Kristensen (1948), otrzymując w podobny sposób rozkładający arabinozę szczep *S. dublin*.

Nungester (1938) „wytrenował" *paracoli* w stosunku do laktozy, sacharozy lub maltozy, Poe i Tregoning (1946, 1952) *E. coli* i *A. aerobacter* w stosunku do salicyny i celobiozy, Virtanen (1948) — w stosunku do laktozy, Hoffstadt i Youmans (1938) stwierdzili podobną zmienność u *Staphylococcus* w stosunku do galaktozy, laktozy i salicyny. Liczne podobne przypadki opisali badacze radzieccy.

Powyższe przypadki zmienności różnią się od *coli mutabile* tym, że do ich zrealizowania konieczny jest długotrwały kontakt komórek z substratem, w stosunku do którego zachodzi adaptacja, zaś od adaptacji enzymatycznej — długotrwałością kontaktu i większym ustaleniem cech.

Szybkość adaptacji można przyspieszyć i przy trenowaniu. Stokes i Weaver (1938) zauważyli, że *paracoli* zaczyna fermentować laktozę już po 48 godzinach, o ile hodowlę prowadzi się w bulionie ze zwiększonym stężeniem cukru (5%).

Nungester (1938) stwierdził przyśpieszenie adaptacji pod wpływem zmniejszenia dostępu tlenu i stężenia peptonu w podłożu; Kristensen (1948) — pod wpływem starzenia się hodowli.

Niekiedy indukcję zdolności do fermentacji powodują czynniki nieswoiste. Na przykład Fredericq i Gratia (1949 a, b, 1950) stwierdzili indukujące działanie faga, przy czym na podstawie swoich obserwacji wykluczają selekcjonującą rolę bakteriofagów.

Bohdanowiczówna i Ławrynowicz (1932) zauważyli, że hodowanie *S. typhi* w warunkach dysgenetycznych (np. w moczu) sprzyja powstawaniu odmiany fermentującej laktozę.

Dziedziczne ustalenie nowej cechy zależy w dużym stopniu, jak już podkreślono, od długotrwałości kontaktu między komórką a czynnikiem indukującym.

Wynika to z doświadczeń Pentolda (wg Eisenberg 1913) nad „trenowaniem" *S. typhi* do arabinozy oraz Walkera (wg Eisenberg 1913) nad nabywaniem przez paciorkowce zdolności do rozkładu inuliny. Okazało się przy tym, że im łatwiej adaptuje się szczep, tym krótszy jest okres kontaktu, potrzebny do ustalenia nowej cechy.

Podobne obserwacje, tyczące się adaptacji funkcji glikolitycznych u drożdży (Lindegren 1945, Palleroni i Lindegren 1953, Spiegelman 1945, 1946, Stanier 1951), doprowadziły do konieczności rewizji klasycznych poglądów genetyków na to zagadnienie.

Wychodząc z koncepcji plastogenu Darlingtona (1944), Lindegren (1945) i Spiegelman (1945, 1946, 1949) stworzyli pojęcie cytogenu (plazmagenu), zmieniającego się pod wpływem otoczenia, ale zależnego i kierowanego przez gen jądrowy.

Stanier (1947) wykazał, że adaptacja jest zawsze wielokrotna i zachodzi nie tylko w stosunku do właściwego substratu, ale jednocześnie do wielu metabolitów pośrednich, występujących w przemianie danego substratu.

Jak słusznie zauważył Gale (1943), ilość „potencjalnych" enzymów musi być w komórce ograniczona. Podobnie musi być ograniczona ilość cytogenów i kierujących nimi genów jądrowych. Do kwestii tej powrócimy jeszcze w następnym rozdziale. Tu wystarczy tylko stwierdzić, że koncepcja genetyków: 1 enzym — 1 gen wymaga w konsekwencji przyjęcia absurdalnej wprost ilości odpowiednich genów i plazmagenów.

Wyjściem z tej sytuacji jest uznanie terminologii i zasobu pojęć genetyki za nieprzydatne do wyjaśnienia zagadnienia „trenowania" bakterii.

Drogę tę wybrał Hinshelwood (1946, 1949, 1950) i stworzył teorię adaptacji opartą nie na scholastycznym sformułowaniu, lecz na badaniu kinetyki procesów enzymatycznych.

Według niego stężenie oraz modyfikacja enzymu zależy od środowiska. W serii badań (Jackson i Hinshelwood 1949, Cooke i Hinshelwood 1947, Hinshelwood 1946), nad adaptacją *Aerobacter aerogenes* do zużytkowania różnych węglowodanów biochemik

angielski wykazał, że metoda fluktuacji Lurii i Delbrücka nie pozwala na wykluczenie adaptacji (patrz wyżej).

Ponadto Hinshelwood stwierdził, że stopniowe ustalanie się nowej cechy(np. fermentacji arabinozy) nie jest powodowane, — jak to twierdzą zwolennicy teorii mutacji spontanicznych — przez stopniową eliminację form nie fermentujących, lecz przez stopniowe utrwalenie zmiany w strukturze aparatu enzymatycznego.

Mieszany charakter populacji *A. aerogenes*, składającej się z form fermentujących i nie fermentujących, oraz stały stosunek ilościowy obu tych form nie jest wynikiem istnienia pewnego stanu równowagi między mutacją i mutacją powrotną.

Hinshelwood zwrócił uwagę na to, że równowaga ta u *A. aerogenes* ustala się na poziomie $1 : 10^7$ (ilość osobników fermentujących w stosunku do ilości osobników nie fermentujących). Jednocześnie stwierdził, że forma fermentująca jest stała i nie przechodzi w nie fermentującą oraz nie jest przez nią hamowana.

Teoria mutacji spontanicznych pierwszy fakt tłumaczy dużą częstością mutacji powrotnej, fakt drugi natomiast można wyjaśnić jedynie wyjątkowo małą częstością mutacji powrotnej.

Teoria mutacji spontanicznych uwikłała się zatem w tym przypadku w sprzeczność, której uniknąć nie może bez przyjmowania dodatkowych, dowolnych założeń.

Takie dodatkowe założenia zaproponował Ryan (1952). Mianowicie badając szczep *E. coli* wymagający histydyny (h -) i jego prototroficzny „mutant" (h+), Atwood, Schneider i Ryan (1948) oraz Ryan i Schneider (1949) zauważyli, że ilość prototroficznych mutantów (h+) stale jest bardzo mała. Wyjaśnili to pojawianiem się w populacji nowego mutanta, odznaczającego się o wiele szybszym wzrostem.

Ponieważ ilość osobników (h—) jest znacznie większa, przeto „szybko rosnące" („faster") mutanty pojawią się w populacji (h—), natomiast szanse wystąpienia „szybko rosnącego" mutanta wśród niewielu jeszcze komórek (h+) są znikomo małe.

„Szybko rosnąca" wtórna populacja (h—) znów tworzy pewną ilość mutantów (h+), po czym w populacji tej pojawia się nowy „jeszcze szybciej rosnący" mutant itd.

Dzięki temu ilość mutantów (h—) zawsze, mimo stałego ich powstawania, jest niewielka.

Ryan niestety nie podaje, ile razy może się pojawiać taki „coraz szybciej" rosnący mutant i co następuje, gdy zostanie osiągnięta maksymalna szybkość rozmnażania, bo chociaż autor nic o tym nie wspomina, trudno przypuścić, by szybkość wzrostu, nawet w rozważaniach genetycznych, mogła rosnąć nieograniczenie.

Obserwacja Ryana nic więc nie wyjaśnia, pozwala jedynie odłożyć na nieco później, do momentu pojawienia się „najszybszego" („fastest"?) mutanta, konieczność szukania wyjaśnienia. Konieczności tej Ryan, zasugerowany spontanicznością zmian, nie zauważył.

Tłumaczenie Ryana zawiera jednak i inne zasadnicze błędy. Zajmiemy się tu nimi z uwagi na to, że jest to przypadek wysoce symptomatyczny dla ogółu genetyków bakteryjnych, operujących głosarzem genetyki

i jak astronomia ptolemeuszowska szukających dodatkowych, *a priori* przyjętych formuł. Położenie głównego nacisku na formalną, logiczną zgodność formuł i postulatów spowodowało niedocenienie materiału faktycznego wynikającego z obserwacji, a czasem nawet jego, niewątpliwie nie zamierzone, niespostrzeganie.

Tak więc Ryan uważa tworzenie takich „szybszych" mutantów za zjawisko powszechne, mimo iż poza tym jednym przypadkiem ani on sam, ani nikt inny nie poczynił podobnych obserwacji, oraz mimo to, że z jego własnych badań (1952) nad *coli mutabile* wynika, iż w populacji nie fermentującej laktozy nie ma tego rodzaju „szybkich" mutantów.

Ryan nie dostrzega też nawet tego, że w razie pojawienia się „szybszych" mutantów w populacji liczniejszej, a więc nie fermentującej, w ogóle nigdy nie doszłoby do przerastania hodowli przez osobniki rozkładające laktozę przy hodowli na laktozie, gdzie wzrost osobników nie fermentujących nie jest bynajmniej powolniejszy niż fermentujących (p. wyżej).

Stanowisko Ryana wobec poruszonego tu problemu ilustruje najlepiej cytat z jego pracy (1952): Before it (tj. teoria Hinshelwooda) is accepted in any instance, modern genetic conceptions must be shown clearly not to apply („zanim teoria Hinshelwooda zostanie przyjęta w jakimkolwiek bądź przypadku, należy w sposób oczywisty wykazać niestosowalność koncepcji współczesnej genetyki").

Stanowisko takie jest niczym nie uzasadnione. Równie dobrze i z niemniejszą słusznością można by było powiedzieć: „zanim teoria mutacji spontanicznych zostanie przyjęta, należy w sposób oczywisty wykazać niestosowalność teorii adaptacji".

Zarówno Lewis, jak i Ryan próbowali to wykazać; z jakim żałosnym dla teorii mutacji spontanicznych skutkiem, widzieliśmy powyżej.

Co więcej, sądzę, że udało mi się wykazać „niestosowalność koncepcji współczesnej genetyki" we wszystkich omawianych tu przypadkach zmienności funkcji glikolitycznych u bakterii.

Za słusznością teorii adaptacji przemawia też brak ostrej granicy między ustalonymi dziedzicznie a przemijającymi zmianami oraz wspomniany już fakt, iż stopień ustalenia nowej cechy zależy od czasu, przez jaki działa czynnik indukujący (Cooke i Hinshelwood 1947).

Przemawia też za nią to, że tak zwane środki mutogenne, działające swoiście na centra korelujące jądrowe (geny), działają niekiedy w sposób analogiczny jak indukcja kierunkowa. Na przykład Ravin (1952) wykazał, że *A. aerogenes*, hodowany na podłożu z glukozą, adaptuje się do szeregu metabolitów pośredniej przemiany cukrów, m. in. do cytrynianu, oraz że zdolność do tej adaptacji zanika w starych hodowlach o niskim pH. Podobny efekt czasowego zaniku zdolności do adaptacji wywołuje słabe naświetlanie promieniami pozafiołkowymi. Widzimy zatem, że typowy środek „mutogenny" działa wyraźnie i odwracalnie na mechanizm adaptacji enzymatycznej.

Teoria adaptacji tłumaczy też zjawiska nabywania zdolności do syntezy metabolitów, których szczep macierzysty wytwarzać nie umiał.

Zjawiska te są o wiele gorzej zbadane. Ponadto nie wchodzą one w zakres omawianych w tym rozdziale problemów. Dlatego też ograniczę się tylko do omówienia niezwykle instruktywnego doświadczenia Lindegre-

n a i R o u t a (1947). Przedmiotem ich badań były drożdże (*S. cerevisiae*), wymagające obecności kwasu pantotenowego i nie rosnące na pożywkach bez tego czynnika wzrostowego. Hodowane na podłożu z dostateczną ilością witaminu pozostawały niezmienione przez wiele pasaży. Uległy natomiast zmianie w czasie wzrostu na podłożach zawierających znikomą ilość kwasu pantotenowego, sięgającą paru molekuł tego związku na ml podłoża. Nabywały wówczas zdolności do syntezy witaminu i zdolność tę zachowywały w następnych pokoleniach.

Wiadomo z bardzo już dziś licznych obserwacji, że szczepy drobnoustrojów wykorzystujące gotowy, podany im w podłożu, czynnik wzrostowy rosną znacznie szybciej niż szczepy syntetyzujące dany czynnik samodzielnie.

Doświadczenie L i n d e g r e n a i R o u t a najprościej zatem wytłumaczyć zakładając, że drobiny kwasu pantotenowego łączą się z nieczynnym plazmatycznym ośrodkiem syntezy witaminu i modyfikują aparat enzymatyczny tak, że synteza kwasu pantotenowego staje się możliwa.

W razie obecności dostatecznej ilości witaminu w podłożu szybciej rozmnażają się osobniki asymilujące gotowy czynnik z podłoża i stale przerastają populację.

Natomiast niewielka ilość drobin witaminu wystarcza, aby w wielu osobnikach wywołać odpowiednią adaptację, nie może natomiast zaspokoić potrzeb osobników niezdolnych do syntezy. W wyniku tego populacja zostaje przerośnięta przez zaadaptowane formy, zdolne do syntezy.

*

Nie jest i nie było moim zamiarem wykazanie, że adaptacja enzymatyczna jest jedynym mechanizmem zmienności funkcji glikolitycznych u drobnoustrojów.

Starałem się tylko krytycznie rozpatrzyć wszystkie „za i przeciw" teorii mutacji spontanicznych i teorii adaptacji.

W trakcie tych rozważań doszedłem do pewnych wniosków, które można byłoby ująć w następujące tezy dyskusyjne:

1) Terminologia genetyków jest balastem, przysłaniającym wielekroć badaczom istotę problemu, który należy formułować za pomocą pojęć biochemii i fizjologii.

2) Przyczyną „niefermentowania" jakiegoś węglowodanu może być zarówno brak odpowiedniego enzymu, jak też nieprzepuszczalność błony, obecność czynnika hamującego enzym lub też hamowanie wzrostu odmiany fermentującej przez cukier fermentowany.

Wobec istnienia różnych przyczyn „niefermentowania" różne też muszą być mechanizmy zmian prowadzących do powstawania odmian fermentujących.

3) Zjawiska zmienności funkcji glikolitycznych możemy podzielić na trzy typy:

a) zmienność regularną, nie ustaloną (enzymy adaptacyjne),

b) zmienność regularną, ustaloną (typ *coli mutabile*),

c) zmienność sporadyczną, nie ustaloną i ustaloną, z całą gamą różnic w stopniu ustalenia (typ *„paracoli"*).

4) Możliwość zmienności jest uwarunkowana strukturalno-funkcjonalnymi wrodzonymi własnościami bakterii.

W przypadkach, gdy minimalna zmiana w strukturze wystarczy do uczynnienia procesu, obserwujemy zmienność regularną i szybką. Jeżeli aktywacja procesu wymaga głębszej zmiany struktury — mamy do czynienia ze zmiennością sporadyczną.

5) Zmiany tego rodzaju wywoływane są bądź przez swoiste czynniki indukujące (zmienność przystosowawcza kierunkowa), bądź też przez nieswoiste czynniki (zmienność indukowana przypadkowa).

6) Stopień ustalenia dziedzicznego nowej cechy zależy od długotrwałości działania czynnika idukującego, inaczej mówiąc, od trwałości odkształcenia struktury enzymatycznej.

7) Próby tłumaczenia tego rodzaju zmienności, przeprowadzone na podstawie teorii mutacji spontanicznych (L e w i s, R y a n), okazały się niesłuszne. W pewnych przypadkach teoria adaptacji tłumaczy obserwowane zjawiska tak samo dobrze, w wielu innych lepiej niż teoria mutacji spontanicznych, pozwalając uniknąć sprzeczności wewnętrznej i dowolnych, nieraz sprzecznych z doświadczeniem założeń.

Zagadnienie endogennych przyczyn zmienności omówione będzie pod koniec rozdziału IX.

Rozdział VII

ZMIENNOŚĆ WŁAŚCIWA, MODYFIKACYJNA, CZ. II

Certain people use statistics as a drunk does a lamppost — more for support than illumination[1].

E i s e n h a r t i W i l s o n, 1943

3. POWSTAWANIE FORM OPORNYCH NA CZYNNIKI BAKTERIOBÓJCZE I KRYTYKA POGLĄDÓW D E M E R E C A

Nabywanie przez drobnoustroje oporności na działanie antybiotyków i środków chemoterapeutycznych jest zjawiskiem o olbrzymim znaczeniu dla lecznictwa.

Zjawisko powyższe interesuje nas w tej chwili jednak przede wszystkim jako proces biologiczny.

Mechanizm powstawania oporności jest w tym przypadku kluczowym problemem i nim zajmiemy się przede wszystkim

Badaniom oporności bakterii poświęcono olbrzymią ilość prac doświadczalnych, planowanych jednak przede wszystkim tak, aby dostarczyć mogły odpowiedzi na szereg pilnych zagadnień praktycznych (szybkość powstawania odmian opornych, czynniki wpływające na ten proces, ustalenie dziedziczne oporności itp.).

Natomiast mechanizmem procesu zajmowało się bez porównania mniej badaczy.

---

[1] „Niektórzy ludzie wykorzystują statystykę jak pijak latarnię raczej jako podpórkę niż jako źródło światła".

Wśród badań tych można wyróżnić trzy zasadnicze kierunki czy też „szkoły": szkołę „radziecką", stojącą na stanowisku adaptacyjnego mechanizmu nabywania oporności, szkołę „angielską" Hinshelwooda, zajmującą zbliżoną pozycję, oraz szkołę „amerykańską" uznającą teorię mutacji spontanicznych za jedyną koncepcję, tłumaczącą mechanizm zmiany.

Poglądy szkoły „amerykańskiej" znalazły wielu zwolenników wśród badaczy zachodnich i w tej lub innej formie trafiły do większości monografii i podręczników ukazujących się w języku angielskim, a w nieco mniejszym stopniu — do dzieł francuskich i niemieckich.

Jednym z najwybitniejszych przedstawicieli szkoły amerykańskiej jest Demerec, a jego praca z r. 1948 jest cytowana jako rozstrzygająca problem mechanizmu powstawania form opornych na korzyść teorii mutacji spontanicznych.

Uważam dlatego za celowe krytyczne rozpatrzenie tej pracy, podobnie jak to zrobiliśmy z pracami Brauna, Lewisa i Ryana, i zbadanie, w jakim stopniu wyniki jej uzasadniają hipotezę mutacji spontanicznych.

Cel swoich badań określił Demerec przede wszystkim jako „przedstawienie dowodu, że oporność bakterii na penicylinę i streptomycynę nie jest indukowana przez te substancje, lecz powstaje spontanicznie w drodze zmian genetycznych, przyrównywalnych do mutacji genowych".

Badania przeprowadzono nad *Staphylococcus aureus* i *E. coli* szczep *B.* Demerec stwierdził następujące fakty:

1) populacje bakteryjne są pod względem oporności na antybiotyki niejednolite, przy czym większość osobników jest wysoce wrażliwa na działanie penicyliny i streptomycyny;

2) klony wyizolowane z kolonii, które wyrosły na podłożu agarowym z antybiotykiem, dają wzrost przynajmniej w tak wysokich stężeniach antybiotyku, z jakich zostały wyoosobnione.

Następnie przeprowadził szereg doświadczeń metodą „fluktuacji" Luriі i Delbrücka (1943).

Małe ilości bakterii (50 do 100 osobników) wsiał do 21 probówek z małą ilością bulionu i inkubował wzrost przez 24 godziny aż do osiągnięcia maksymalnej ilości komórek (*ca* $2 \cdot 10^8$ na ml) (Seria I).

Jednocześnie takie same małe ilości bakterii wsiewano na agar odżywczy z takim stężeniem antybiotyku, aby wzrost na nich nie wystąpił (seria II). Brak wzrostu świadczy w tym przypadku o braku form opornych na dane stężenie antybiotyku w wyjściowej, małej populacji.

Z kolei pobrano po 0,1 ml z 24-godzinnych hodowli bulionowych serii I i wysiewano na agar odżywczy z penicyliną, w stężeniu stosowanym w serii II. Po otrzymaniu widocznego wzrostu liczono ilość kolonii na poszczególnych płytkach (seria III).

Ponadto pobrano też 15 probek po 0,1 ml z jednej hodowli bulionowej serii I i wysiano je w ten sam sposób na płytki agarowe z antybiotykiem (seria IV).

W wyniku okazało się, że ilości kolonii, jakie wyrosły na poszczególnych płytkach serii III, były bardzo różne, natomiast w serii IV otrzymano na wszystkich płytkach w przybliżeniu takie same ilości kolonii. Ilustruje to poniższa tabela, wzięta z pracy Demereca (uproszczona).

Ilość kolonii *E. coli*, jakie wyrosły na płytkach z 5 jednostkami streptomycyny na 1 ml podłoża

Seria III Próbki z poszczególnych hodowli bulionowych				Seria IV Próbki z jednej hodowli bulionowej			
Nr hodowli	Ilość kolonii	Nr hodowli	Ilość kolonii	Nr hodowli	Ilość kolonii	Nr hodowli	Ilość kolonii
1	67	11	56	1	142	11	110
2	159	12	91	2	155	12	125
3	135	13	123	3	132	13	135
4	291	14	97	4	123	14	121
5	75	15	48	5	140	15	112
6	117	16	52	6	146		
7	73	17	54	7	141		
8	129	18	89	8	137		
9	86	19	111	9	128		
10	101	20	164	10	121		

Biorąc za punkt wyjścia powyższe wyniki Demerec rozumuje następująco:

Pierwotna populacja (złożona z 50 do 300 komórek) nie zawierała osobników opornych. Te ostatnie musiały się zatem pojawić w czasie hodowli. Duże wahania w ilości kolonii opornych serii III nie dają się wytłumaczyć na podstawie teorii adaptacji, gdyż według Demereca w razie adaptacji „mniej więcej jednakowe ilości opornych bakterii powinny przypuszczalnie powstać na wszystkich płytkach, bez względu na pochodzenie hodowli". Natomiast — jak już wykazali Luria i Delbrück — przy przyjęciu teorii mutacji spontanicznych należy spodziewać się dużych wahań w ilości kolonii na poszczególnych płytkach, gdyż ilość ta będzie zależna od tego, czy mutacja powstanie wcześniej czy później w danej hodowli.

W dalszych eksperymentach stwierdził Demerec, że oporność w stosunku do penicyliny narasta stopniowo, ale nie w formie procesu ciągłego, lecz skokowego.

Po otrzymaniu populacji opornej na 0,15 j/ml skokowo powstała z niej nowa populacja oporna na 0,2 j/ml, z tej trzecia - oporna na 0,4 j/ml, piąta — na 1 j/ml, szósta — na 7 j/ml i siódma oporna nawet na 250 j/ml.

Na podstawie powyższego Demerec zakłada, że oporność na penicylinę powstaje nie na drodze jednej mutacji, lecz wielu, przynajmniej siedmiu mutacji spontanicznych.

W stosunku do streptomycyny oporność narasta zarówno w drodze selekcji licznych wielostopniowych mutantów, jak i poprzez nagłe, jednorazowe tworzenie mutanta o maksymalnej oporności.

Demerec zauważył również, zgodnie z wcześniejszymi obserwacjami innych badaczy, że oporność na penicylinę powstaje niezależnie od oporności na streptomycynę i *vice versa*.

W konkluzji D e m e r e c dochodzi do wniosku, że oporność na antybiotyki i środki chemoterapeutyczne powstaje na drodze mutacji spontanicznych, przy czym dla każdego antybiotyku i dla każdego stopnia oporności zakłada istnienie odrębnego genu.

Zastanówmy się obecnie, w jakim stopniu uzasadnione są powyższe wnioski D e m e r e c a.

Rozumowanie D e m e r e c a opiera się na tezie L u r i i i D e l b r ü c k a, że duże wahania w ilości kolonii opornych na dane stężenie antybiotyku w serii III dają się wyjaśnić jedynie za pomocą teorii mutacji spontanicznych.

Jak już zaznaczono w poprzednim rozdziale, teza ta została zakwestionowana przez H i n s h e l w o o d a (1949).

Według niego wahania takie można równie dobrze wytłumaczyć za pomocą teorii adaptacji.

Mianowicie adaptacja bakterii do antybiotyku wymaga pewnego określonego czasu, zależnego zarówno od rodzaju środka antybiotycznego, jak i od stanu fizjologicznego organizmu. Populacje bakteryjne nie są jednak jednolite i składają się z osobników znajdujących się w różnym stadium rozwoju i w różnym stanie fizjologicznym. Zamieranie poszczególnych bakterii pod wpływem antybiotyku będzie zatem przebiegało z różną szybkością. W czasie więc, jaki ptrzebny jest do zaadaptowania się bakterii, większość osobników ulegnie zabiciu.

Zaadaptują się tylko te, które przeżyją przez okres dostateczny dla tego, aby w czasie jego trwania drobnoustrój zdążył przestawić swój aparat enzymatyczny.

Ilość przeżywających i adaptujących się osobników będzie zatem bardzo małą, wskutek czego losowe wahania ilości osobników „opornych" będą bardzo duże.

Metoda L u r i i i D e l b r ü c k a pozwala więc na zbadanie, czy danej zmianie ulega cała populacja, czy też jedynie pojedyncze jej osobniki. Natomiast metoda ta jest bezużyteczna jako podstawa do osądzenia przyczyny przeżywania tylko małego odsetka komórek.

Od siebie zaznaczę, że D e m e r e c dodatkowo starał się uzasadnić swój wniosek doświadczeniem serii IV, w której wysiew próbek z jednej hodowli dał małe wahania ilości kolonii opornych.

Uzasadnienie to byłoby jednak słuszne tylko wówczas, gdyby wykazano, że pomiędzy poszczególnymi hodowlami nie ma większej różnicy w ich stanie fizjologicznym niż pomiędzy wieloma próbkami tej samej hodowli.

D e m e r e c nie starał się jednak nawet o wykazanie tego. Równocenność fizjologiczna wielu hodowli jest zresztą mało prawdopodobna, gdyż nawet minimalne przysunięcie w fazie rozwoju mogłoby wystarczyć do spowodowania takich różnic w ilości adaptujących się komórek, jakie otrzymano doświadczalnie.

Jak widzimy, zastosowana metoda „fluktuacji" nie pozwala wykluczyć teorii adaptacji, jest więc dla celów, jakie sobie postawił D e m e r e c, nieprzydatna.

D e m e r e c, uzasadniając pogląd o spontanicznym powstawaniu odmian opornych, pominął milczeniem szereg stwierdzonych uprzednio fak-

tów lub też przyjął liczne założenia jako oczywiste i nie wymagające eksperymentalnego potwierdzenia.

Przede wszystkim zakłada on, że osobniki oporne dają potomstwo o oporności nie mniejszej niż własna.

Zastrzeżenie takie, z jego punktu widzenia, jest konieczne, ponieważ jeśli oporność na antybiotyki nie jest cechą dziedziczną u wszystkich osobników (poza bardzo nielicznymi mutantami „powrotnymi"), wówczas cały skomplikowany mechanizm wielogenowych i wielostopniowych mutacji rozpada się i może być odesłany do archiwum.

Założenie powyższe jest więc konieczne; wadą jego jest tylko to, że nie jest zgodne z faktami.

Faktów tych dostarczyły m. in. eksperymenty Schnabela (1924) oraz Schnabela i Kasarnowskyego (1924), Barer (1951), Silvera i Kempe (1947) oraz Hughesa (1952).

Schnabel zauważył, że bakterie hodowane w pożywce zawierającej małe stężenie środka bakteriobójczego tworzą formy o zwiększonej wrażliwości na ten środek.

W stosunku do antybiotyków potwierdzili to Silverman i Kempe (1947). W zawiesinie sporządzonej z kolonii *E. coli*, opornej na 5 γ streptomycyny, znaleźli oni *ca* 4% osobników wrażliwych na 0,05 1 γ, oraz *ca* 11% — na 1 — 2 γ.

Barer wykazała, że przesiewy wykonane z populacji *E. coli*, w całości opornej na 0,5 γ 1/ml, dają wtórne populacje mieszane, w których część osobników nie rośnie w tym stężeniu streptomycyny.

Wreszcie Hughes, pracując nad populacją *E. coli* w całości oporną na 2 j. penicyliny na ml, założył za pomocą mikromanipulatora 15 hodowli pochodzących z jednej komórki. Trzy z tych hodowli były bardziej wrażliwe na penicylinę niż populacja macierzysta; wzrost jednej z nich był hamowany już przez 0,075 j penicyliny w ml podłoża.

Drugim założeniem Demereca (1945 a, b, 1948, Bryson i Demerec 1950) jest teza, iż w pierwotnie jednorodnej populacji powstaje oporność skokowo w paru kolejnych etapach. Populacja „przystosowana" składa się zatem według niego z pewnej określonej ilości (wg jego pracy z 1948 — z siedmiu) biotypów, mniej więcej jednorodnych pod względem stopnia oporności i wyraźnie od siebie odgraniczonych.

Koncepcja parustopniowych mutacji była potrzebna Demerecowi, aby wytłumaczyć stopniowość narastania penicylinooporności, a konsekwencją tego stanowiska było przyjęcie istnienia paru biotypów, pomiędzy którymi nie byłoby form pośrednich.

Słabą stroną tego drugiego założenia jest też tylko brak zgodności z dość licznymi obserwacjami innych badaczy.

Podobne biotypy, chociaż formowane na podstawie innych cech, wyróżnił w populacjach *Paramaecium* Jennings (1908). Jollos (1913, 1921, 1934) wykazał jednak później zmienność takich biotypów.

Wspomniani już Silverman i Kempe (1947) oraz Cavalli i Maccacaro (1950) stwierdzili u *E. coli* zmienność ciągłą w oporności na streptomycynę. Podobne zjawisko u *S. typhi* znaleźli Dulong i Pasquier (1952).

Specjalne badania, poświęcone temu problemowi, przeprowadził H u g h e s (1952). Stwierdził on, że populacja składająca się ze 100 komórek *E. coli* jest rzeczywiście jednorodna, o ile bada się oporność osobników na rosnące stężenia penicyliny, różniące się pomiędzy sobą o 1/400 j/ml. Natomiast w stosunku do stężeń penicyliny różniących się między sobą tylko o 1/1200 j/ml taka sama populacja przestaje być homogenna.

W dużych populacjach (10^6 komórek) niejednorodność można wykazać używając do badań stężeń antybiotyku różniących się nawet o 0,125 0,25 j/ml.

Inaczej mówiąc, ilość wyróżnianych biotypów zależy jedynie od ilości stosowanych przez badacza granicznych stężeń i od wielkości populacji.

Stojąc konsekwentnie na stanowisku spontaniczności mutacji genowych należałoby przyjąć istnienie wieluset lub nawet paru tysięcy genów, które kolejno mutując tworzyłyby odpowiednie „stopnie" oporności.

Ponieważ według D e m e r e c a oporność na penicylinę jest niezależna od oporności na inne antybiotyki i środki bakteriobójcze oraz jest zależna od stanu odrębnych genów — rozumowanie takie doprowadziłoby nas do absurdalnego wniosku, że w każdej komórce istnieje wiele tysięcy, a nawet wieleset tysięcy genów.

Okazało się zatem, że hipoteza wieloetapowych mutacji jest nie do pogodzenia z faktami doświadczalnymi.

Fikcją jest również jednorodność pierwotnej populacji, zawierającej masę osobników wrażliwych i nieliczne (*ca* $1 : 10^8$) osobniki oporne.

Niejednorodność ilustrują poniższe zestawienia obrazujące rozrzut oporności na antybiotyki w populacjach bakteryjnych:

Stężenie streptomycyny	% osobników wrażliwych	Stężenie penicyliny	Ilość osobników opornych
0,05— 1 γ	4	0,5 j/ml	1 000 000
1 — 2 γ	11	0,625 j/ml	290 000
2 — 8 γ	61	0,75 j/ml	44 000
8 — 12,5 γ	14	0,875 j/ml	285
12,5 — 25 γ	7	1,0 j/ml	66
25 — 50 γ	1,5	1,25 j/ml	77
50 — 100 γ	1,5		
wg Silver i Kempe (1947)		wg Hughes (1952)	

Podobne stosunki liczbowe obserwowali B a r e r (1951) i C o l l a r d (1953).

Uwaga T r o i c k i e g o et al (1950) o niewystępowaniu w normalnych bakteryjnych populacjach form opornych odnosi się tylko do oporności na duże stężenia antybiotyków i została zamieszczona w krytyce zapatrywań, według których (np. B r y s o n i D e m e r e c 1950) w każdej dość dużej populacji znajduje się osobnik oporny na jakikolwiekbądź środek bakteriobójczy.

Należy podkreślić, że wyniki liczbowe otrzymane przez D e m e r e c a mają tylko wartość względną.

B a r e r (1951) wykazała, że przy hodowaniu *Aerobacter aerogenes* na podłożach ze streptomycyną faza zastoju (*lag-phase*) może ulec przedłużeniu aż do ośmiu dni.

S a z i E a g l e (1953) stwierdzili, że przy małym stężeniu antybiotyku produkty rozpadu, powstające po śmierci licznych wrażliwych osobników, działają zabójczo na mniej liczne, oporniejsze komórki.

Obie te okoliczności, stwierdzone zresztą znacznie później, nie mogły być uwzględnione przez D e m e r e c a. Nie wiadomo jednak, jakiej zmianie uległyby cyfry D e m e r e c a, gdyby powtórzyć badania przy ich uwzględnieniu.

Zamykając krytyczne rozważania nad poglądami D e m e r e c a stwierdzimy, że: 1) *metoda „fluktuacji" nie wyklucza adaptacji jako mechanizmu zmian oporności na antybiotyki,* 2) *teoria mutacji spontanicznych jest niezgodna z obserwowaną w naturze ciągłą zmiennością fluktuacyjną w obrębie populacji oraz z częstokroć większą wrażliwością osobników potomnych niż populacja macierzysta,* 3) *hipoteza wieloetapowych mutacji doprowadza do fantastycznych i nierealnych wniosków.*

Musimy więc uznać, że D e m e r e c o w i nie udało się osiągnąć postawionego przez siebie celu — wykazania, że oporność na antybiotyki przejawia się spontanicznie i ma charakter mutacji genowych.

Co więcej, okazało się, że teoria mutacji spontanicznych jest wprost sprzeczna z doświadczeniem.

Oczywiście, „każdą zmianę", jak słusznie podkreślają B u c h e r i D o e r r (1950), „można sprowadzić do mutacji ... jeśli będzie się w różny sposób kombinowało hipotetyczne elementy: mutację, powrotną mutację (backmutation), selekcję, różne szybkości rozmnażania, bez uwzględnienia jakościowego i ilościowego działania każdego z tych czynników" oraz, możemy dodać, bez sprawdzania zgodności przyjętych założeń z obserwowanymi faktami.

Metoda taka — poza satysfakcją wynikającą ze świadomości skonstruowania logicznej, lecz nie opartej na faktach hipotezy — daje bardzo niewiele, nic nie wyjaśniając i nie poszerzając naszej wiedzy o naturze zmienności.

W poglądach swoich D e m e r e c nie jest odosobniony i dlatego właśnie poświęciliśmy im tyle miejsca.

Bardzo wielu badaczy stoi jednak na stanowisku odmiennym, uważając, że oporność na środki antybakteryjne jest wynikiem oddziaływania tych właśnie środków na drobnoustrój.

Wymienić tu należy przede wszystkim bakteriologów radzieckich.

T r o i c k i et al (1953) w starannie zaplanowanym eksperymencie, wykonanym podobnie do omówionej pracy D e m e r e c a, wykazał, że oporność na streptomycynę i penicylinę narasta stopniowo w czasie hodowli w obecności subletalnych stężeń antybiotyków.

G r a e s s l e i F r o s t (1946) zaadaptowali *Staphylococcus aureus* do 1500 j/ml penicyliny, przy czym stwierdzili, że proces adaptacji jest wyraźnie uzależniony od długotrwałości trenowania.

S i l v e r i K e m p e (1947) wykazali zależność pomiędzy stopniem oporności a stężeniem streptomycyny, w którym prowadzono adaptację. *A. aerogenes*, oporny na 1 γ streptomycyny i hodowany przez okres 3 tygodni w tym stężeniu, wytworzył formę niewrażliwą na 3000 γ antybiotyku, natomiast hodowany przez taki sam okres w obecności 0,05 γ zaadaptował się jedynie do stężenia 5 γ streptomycyny.

Hughes (1952) stwierdził, że podczas kolejnych pasaży *E. coli* na wzrastających stężeniach penicyliny cała krzywa, obrazująca rozrzut oporności w obrębie populacji, ulega przesunięciu w kierunku większych koncentracji antybiotyku.

Smolens i Vogt (1953) hodowali *Haemophilus pertussis* na podłożu Bordet-Gangou ze streptomycyną, przy czym odsetek osobników opornych był bardzo mały. Natomiast przy hodowli na pożywce Cohen-Wheelera ilość opornych komórek wzrastała do 40%. Gronkowiec hodowany na tym podłożu wykazywał 100% komórek opornych, przy czym autorowie sprawdzili, że efekt ten nie jest wywołany przez oddziaływanie podłoża na antybiotyk, lecz na sam drobnoustrój.

Voureka (1952), badając chloromycetynowrażliwy a penicylino- i streptomycynooporny wariant *S. aureus*, stwierdził, że podczas hodowli w obecności chloromycetyny w stężeniu 40 γ/0,1 ml wszystkie lub niemal wszystkie komórki stają się oporne.

Zmiana ta występowała, mimo że podziały gronkowca były zupełnie zahamowane, co kontrolowano za pomocą obserwacji mikroskopowej.

Strandskov (1947) znajdywał w czterodniowej hodowli *E. coli* w obecności kwasu 2-chloro-p-aminobenzoesowego 25% osobników opornych, przy czym oporność powstawała na drodze adaptacji.

Pollock (1953) znalazł adaptacyjne wytwarzanie penicylinazy u *B. cereus*.

Sądzę, że mnożenie ilości przykładów byłoby bezcelowe. Chodziło mi tylko o podkreślenie, że proces adaptacji był bardzo często obserwowany i że częstokroć opisywane fakty nie dadzą się wytłumaczyć inaczej niż za pomocą hipotezy adaptacyjnej.

Wydaje się, że podobnie jak przy omawianiu zmienności funkcji glikolitycznych, tak i w przypadku powstawania oporności na substancje bakteriobójcze celowe byłoby zrezygnowanie z pojęć genetyki i przeniesienie dyskusji na teren biochemii i fizjologii.

Przede wszystkim zasługuje na przeanalizowanie sam mechanizm oporności drobnoustrojów.

Oporność na szkodliwe działanie jakiejś substancji chemicznej może wynikać z następujących przyczyn:

1) Nieprzenikliwości błony komórkowej i cytoplazmatycznej dla czynnika szkodliwego. Przykładem tego może być nieprzenikliwość cytoplazmy arsenooopornych krętków dla leków arsenowych (Peacoock i Hinshelwood 1948 b) oraz bakterii propionowych dla fluorków (Wiggert i Werkman 1939).

2) Zwiększonej produkcji metabolitu — antagonisty czynnika szkodliwego, co obserwujemy na przykład u sulfamidoopornych *Neisseria* w postaci wytwarzania zwiększonych ilości kwasu p-amino-benzoesowego (Landy i Gerstung 1947).

3) Rozkładu czynnika szkodliwego - na przykład za pomocą penicylinazy.

4) Zwiększonej produkcji metabolitu, którego asymilacja jest hamowana przez środek bakteriobójczy. Podobnych przykładów dostarczyli Gale i Rodwell (1948 b).

5) Zwiększonej produkcji enzymu, hamowanego przez dany czynnik (Wyss 1951). Gale i Epps (1942) opisali na przykład wytwarzanie w środowisku kwaśnym większych ilości katalazy i ureazy, przy tym odczynie mających znacznie mniejszą aktywność.

6) Wykorzystania innej, zastępczej drogi przemian metabolicznych; na przykład unieczynnienie cyklu Krebsa u *E. coli* pod wpływem streptomycyny (Umbreit 1949, Henry et al 1948, Geiger 1947).

7) Nieadsorbowania czynnika szkodliwego i braku powinowactwa między nim a białkami komórkowymi.

Różnice w adsorbowaniu penicyliny przez całe komórki i wyekstrahowane z nich białka wrażliwych i opornych szczepów bakterii opisał Eagle (1954).

8) Zmian cytologicznych, których interpretacja jest dziś jeszcze niemożliwa.

Nie mniej ważny dla badań nad tworzeniem form opornych jest mechanizm działania czynnika szkodliwego.

Zagadnienie to rozpatrzymy na przykładzie penicyliny. Badania Dufrenoy i Roberts (1947 a, b, 1948 a, b), Pratta i Dufrenoy (1948, 1949) oraz Massarta, Petersa i Van Houcke (1947) wykazały, że penicylina blokuje grupy sulfhydrylowe (SH), od których zależy aktywność wielu enzymów (Barron Guzman, 1953) oraz podział komórek (Nickerson 1948). Penicylina hamuje na przykład rybonukleazę, adenylopyrofosfatazę, katalazę, ureazę (Sevag 1952).

Tym mechanizmem działania należy przypuszczalnie tłumaczyć zakłócanie przez penicylinę procesu przenoszenia wodoru, oddychania w ogóle, transfosforylacji.

Innym efektem penicyliny — stwierdzonym przez powyższych badaczy oraz przez Bichowskiego (1944), Mitchella (1948), Grosa i Machboeuf (1948) i Machboeuf (1948), Cohen (1949) — jest naruszenie metabolizmu kwasów nukleinowych i zmiana stosunku ilościowego obu tych kwasów.

Antybiotyk ten hamuje asymilację kwasu glutaminowego i wypacza metabolizm aminokwasowy (Gale 1947, Taylor 1947, Gale i Rodwell 1949), przemianę węglowodanową oraz skład azotowy bakterii (Mesrobeanu i Mitrica 1951, Mesrobeanu et al 1952).

Zahamowanie podziału komórek przy jednoczesnym utrzymaniu podziału chromatyny, obserwowane przez Lahelle (1947), Welscha (1948), Pratta i Dufrenoy (1948), Troickiego et al (1953) i wielu innych, jest zjawiskiem powszechnie znanym.

Penicylina więc działa przede wszystkim na aktywną przepuszczalność błony cytoplazmatycznej i na procesy enzymatyczne, przebiegające przy udziale zaczynów z czynną grupą sulfhydrylową.

Trudno zatem przypuszczać, by czynnik tak silnie modyfikujący aparat enzymatyczny bakterii i wpływający w dużym stopniu na metabolizm kwasów nukleinowych nie oddziaływał na mechanizm dziedzicznego przekazywania cech, polegający ostatecznie na enzymatycznym odtwarzaniu pewnych dynamicznych struktur morfologiczno-funkcjonalnych.

Nawet stojąc na stanowisku, że dziedziczenie cech zależy wyłącznie od stanu genów jądrowych, nie da się uniknąć wniosku, iż zmiany w metabolizmie kwasów nukleinowych i białek mogą, a często muszą zmienić charakter nukleoproteidowych genów.

Powstawanie oporności poprzez spontaniczne zmiany wielu niezależnych od siebie genów, odrębnych dla każdego środka lub przynajmniej każdej grupy środków bakteriobójczych oraz dla każdej reakcji enzymatycznej, nie da się również pogodzić z bardzo często obserwowaną jednoczesną z nabywaniem penicylinooporności zmianą wielu cech.

Dwumiesięczne pasażowanie pneumokoków, paciorkowców i gronkowców powodowało, wraz z 60 – 500-krotnym zwiększeniem oporności, przejściową utratę wirulencji, a u gronkowców również zanik zdolności do tworzenia pigmentu i zwolnienie wzrostu (Eriksen 1948).

S. aureus, adaptowany do penicyliny, stopniowo tracił charakter szczepu wyjściowego upodobniając się do *S. citreus*, nie wytwarzał hemolizyny, koagulazy oraz przestawał fermentować niektóre węglowodany (Mesrobeanu et al 1949, 1952, Mesrobeanu i Mitrica 1951).

Podobnie Bellamy i Klimek (1948) stwierdzili, że *S. aureus* w tych warunkach staje się pleomorficzną gramujemną bakterią, ściśle tlenową, samodzielnie syntetyzującą kwas nikotynowy, tracąc jednocześnie zdolność do zakwaszania wielu cukrów, do redukcji azotanów i do wzrostu w obecności 6,5% NaCl.

Utratę pigmentu u penicylinoopornych gronkowców obserwował też Goeters (1952).

Zmiany aktywności enzymatycznej, pojawiające się przy adaptowaniu szczepu do antybiotyku, opisali również Sacharow i Gudkowa (1944), Gejman (1949) wg Sachorow (1952), Sacharow (1952), Ciuca et al (1953).

Zwiększoną zawartość kwasu rybozonukleinowego u szczepów opornych znaleźli Mesrobeanu et al (1952) oraz Smolens i Vogt (1953).

Streptomycyna natomiast dzięki obecności w cząsteczce zasady gwanidynowej, streptydyny, wytrąca kwasy nukleinowe (Cohen 1946), a ponadto wpływa na przemianę oddechową, naruszając cykl Krebsa (patrz wyżej) oraz syntezę hemoproteidów (Jensen i Thofern 1953).

Inne są zatem mechanizmy działania obu omawianych tu antybiotyków i inne będą mechanizmy powstawania opornych odmian.

O odmiennym sposobie działania streptomycyny świadczy też powstawanie form streptomycynozależnych (Kushnik et al 1947).

Wiele danych wskazuje na to, że oporność na duże stężenie streptomycyny może niekiedy powstać nagle, skokowo (Miller i Bohnhoff 1947, Alexander i Leidy 1952, Hotchkiss 1953, Zadik 1951).

Wiadomo również, że streptomycyna działa w pewnym stopniu jak typowy „mutogen" nie tylko na bakterie, ale również na glony i rośliny wyższe.

Nie wykluczone zatem, że streptomycynooporność może czasem powstawać skokowo pod wpływem zmian w centralnych, możliwe nawet „nukleoidowych" ośrodkach korelujących. Fakt, że ten rodzaj zmienności obserwuje-

my właśnie w stosunku do streptomycyny, swoiście reagującej z kwasami nukleinowymi, wskazuje, iż jest to przykład mutacji indukowanej.

Antybiotyk działa modyfikująco bezpośrednio na nukleoproteidowe ośrodki korelujące. Pod wpływem tego działania powstają liczne, wielokierunkowe zmiany, z których możność przetrwania mają jedynie zmiany skojarzone ze zwiększeniem oporności na streptomycynę.

Niewątpliwie jednak w większości przypadków streptomycynooporność powstaje na drodze adaptacji, podobnie jak zachodzi to w stosunku do penicyliny.

Świadczą o tym liczne wspomniane już prace Silvera i Kempego (1947), Barer (1951), Collarda (1953), Troickiego et al (1953) i innych.

Podciąganie pod jeden schemat mechanizmu powstawania oporności na wszelkie środki bakteriostatyczne i bakteriobójcze byłoby, jak z powyższych uwag wynika, wypaczającym naturę uproszczeniem, niedostrzeganiem różnorodności mechanizmów oddziaływania różnych czynników na komórkę i różnorodności sposobów reagowania komórek na te czynniki.

Reakcja komórki prowadzi albo do nekrobiozy i zamierania, lub też do przystosowania, adaptacji do czynnika wywołującego reakcję. Różny może być natomiast mechanizm adaptacji.

Liczne prace bezpośrednio lub pośrednio potwierdzają słuszność uznawania adaptacji za zasadniczy mechanizm powstawania oporności na substancje przeciwbakteryjne.

Wymienimy tylko przykładowo badania Eisenberga (1914) nad adaptacją *Bacillus anthracis* do LiCl, Effronta (1893, 1894) (adaptacja drożdży do fluorków i formolu), Severensa i Tannera 1945 (adaptacja do NaCl, $HgCl_2$ itd.), Taugwaldera (1946) (adaptacja do fenolu), Won (1950) (adaptacja do kamfory), Lemberga et al (1946), Sacharowa i Gudkowej (1944), Buriewy (1950) wg Sacharowa (1952), Kohna i Harrisa (1942), Stephenson (1940) – nad adaptacją do sulfamidów, Danysza (1900).

Przytaczanie większej ilości prac dotyczących adaptacji byłoby zbędne. Tu wspomnimy jedynie badania Schuckmanna i Piekarskiego (1940) nad adaptacją *Colpoda steinii* do As_2O_3.

Proces ten u tego pierwotniaka przebiegał tak samo u normalnych ras, jak i u ras nie posiadających mikronukleusa, co stanowi bezpośredni dowód plazmatycznej natury adaptacji.

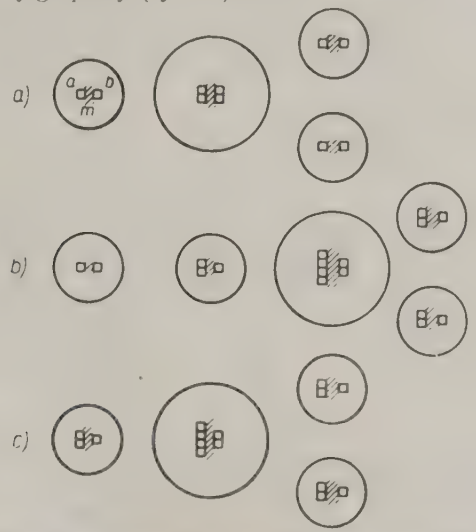
Zjawisko nabywania oporności przez drobnoustroje przypomina nieco proces adaptacji hodowli tkankowych do alkaloidów opiumowych, morfiny, kodeiny i heroiny (Saito 1936, Sasoki 1938, Kubo 1939 – wg Bucher i Doerr 1950). W procesie przyzwyczajania hodowli tkankowych do alkaloidów główną rolę odgrywa bez wątpienia adaptacja poszczególnych komórek, utrwalona dziedzicznie. Dziedziczenie to zachodzi prawdopodobnie w sposób podobny jak przekazywanie cech „wrodzonych" u komórek epidermy, opisane przez Medawara (1949).

Wobec uznania adaptacyjnego charakteru powstawania form opornych na środki antybakteryjne nasuwa się konieczność rozpatrzenia mechanizmu procesu adaptacji.

Najnowocześniejszą i najlepiej udokumentowaną teorię adaptacji zawdzięczamy Hinshelwoodowi (Hinshelwood 1944, 1946, 1949, Davis, Hinshelwood i Pryce 1944).

Punktem wyjścia dla Hinshelwooda są dość skomplikowane rozważania nad kinetyką reakcji enzymatycznych.

Prościej możemy odtworzyć tok tego rozumowania za pomocą schematu zaczerpniętego z jego pracy (rys. 13).



Rys. 13. Model mechanizmu adaptacji enzymatycznej w stosunku do substancji bakteriobójczej.
a i b — niezbędne składniki komórki
m — metabolit pośredni, wytwarzany przez a, a niezbędny dla powstania b. Stężenie metabolitu zaznaczono kreskami. 1) — stan normalny, 2) — zahamowanie procesu enzymatycznego przez substancję bakteriobójczą, 3) — stan po adaptacji, wg Hinshelwooda (1949).

Kwadraciki „a" i „b" wyobrażać mają pewne elementy plazmatyczne, niezbędne dla wzrostu komórki.

Element „b" powstaje z „a" przez pośredni metabolit „m". Załóżmy, że dany środek bakteriobójczy hamuje wytwarzanie „m". Wówczas „a" będzie się gromadzić w komórce w zwiększonej ilości (synteza „a" jest nienaruszona), natomiast ilość „b" pozostanie bez zmian. Dopiero gdy zwolniony przez bakteriobójczy środek proces syntezy „m" doprowadzi do jego dostatecznego nagromadzenia, powstanie więcej „b", co umożliwi podział komórki. Z czasem powstaje forma o zwiększonej zawartości „a", a więc o zwiększonej zdolności wytwarzania „m".

Proces ten umożliwia organizmowi rozwój w obecności czynnika szkodliwego — jest więc adaptacją.

Zachodzi on dzięki zmianie stosunków ilościowych, w zestawie enzymatycznym oraz dzięki modyfikacji struktury enzymów. Zmianie ulega rozmieszczenie pewnych grup chemicznych i przestrzenne ułożenie makromo-

lekuł, prowadząc do powstania nowych, zmienionych szeregów enzymatycznych.

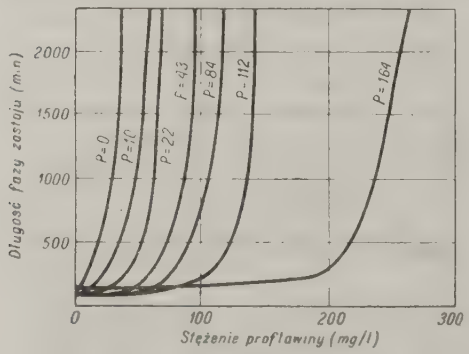
Wytwarzają się w ten sposób zespoły enzymatyczne niewrażliwe na działanie danego środka antybakteryjnego.

Proces ten jest według Hinshelwooda automatyczny i przebiega zgodnie z prawami rządzącymi reakcjami enzymatycznymi.

Mechanizm ten tłumaczy swoistość adaptacji, gdyż różne substancje będą hamowały różne ogniwa procesów enzymatycznych. Wyjaśnia również automatyczność i powszechność procesu adaptacji, obejmującego często wszystkie komórki populacji. Zrozumiałe też stają się towarzyszące temu procesowi modyfikacje enzymów.

Krzyżową adaptację w stosunku do dwu substancji, na przykład proflawiny i błękitu metylenowego (Pryce, Davies i Hinshelwood 1945), tłumaczyć można tym, że obie te substancje hamują przynajmniej częściowo te same ogniwa procesów enzymatycznych.

Indukowanie rewersji do stanu wrażliwości — na przykład znikanie sulfamidooporności pod wpływem proflawiny — tłumaczy autor wzajemnym antagonizmem obu tych substancji w ich działaniu na pewne enzymy. Tak więc pod wpływem sulfamidu zwiększa się ilość katalazy; proflawina natomiast powoduje zmniejszenie ilości tego enzymu.



Rys. 14 Wpływ proflawiny na długość fazy zastoju (lag-phase) w nie zaadaptowanym i w zaadaptowanych do proflawiny klonach *Aerobacter aerogenes*.

Wartości P uwidocznione przy krzywych, oznaczają stężenie proflawiny, do jakiego dany klon został zaadaptowany, wg Hinshelwooda (1946) uproszczone.

Substancja szkodliwa, działając na bakterie, powoduje przedłużenie fazy zastoju *(lag-phase)* i wieku pokolenia oraz zmniejszenie maksymalnej ilości bakterii na jednostkę objętości.

Podczas adaptacji długotrwałość fazy zastoju i częstość podziałów wracają do wartości normalnych, charakterystycznych dla danego szczepu (rys. 14), natomiast nawet w pełni zaadaptowana forma daje w obecności danej substancji szkodliwej mniej obfity wzrost.

Hinshelwood poddaje również krytyce teorię mutacji spontanicznych, o czym już wspomniano uprzednio (Hinshelwood 1946, Hinshelwood i Jackson 1950, Jackson i Hinshelwood 1950).

Teoria Hinshelwooda została zbudowana na podstawie rozległych badań autora i jego szkoły nad *Aerobacter aerogenes*. Nie tłumaczy zatem ona oczywiście wszystkich przypadków adaptacji.

Jest jednak doskonałym przykładem tego, że rozpatrywanie zjawiska tworzenia form opornych jako procesu biochemicznego może dać nauce bez

porównania więcej niż konstruowanie hipotetycznych schematów dziedziczenia zmian, rzekomo powstających spontanicznie.

Słusznie podkreślają B u c h e r i D o e r r (1950), że próba wyjaśniania tego rodzaju zmienności za pomocą jakiejś jednej zasady musi okazać się bezpłodna.

Oporność drobnoustrojów na szkodliwe dla nich substancje może powstawać w sposób różnorodny (patrz str. 271). Nawet u jednego gatunku mechanizm tworzenia form opornych może być różny, jak świadczy o tym na przykład istnienie penicylinooopornych gronkowców, produkujących penicylinazę i nie tworzących jej (B o n d i i D i e t z 1944, 1945).

Różne też będą na pewno mechanizmy adaptacji, a hipoteza H i n s h e l w o o d a dotyczy tylko jednego z takich możliwych mechanizmów.

Ponadto teorie adaptacji nie będą mogły wytłumaczyć wszystkich przypadków tworzenia form opornych.

Znane są przykłady powstawania form opornych na środki chemoterapeutyczne lub antybiotyki w nieobecności danej substancji.

Tak więc G a l e (1949), „trenując" gronkowce do syntezowania aminokwasów, otrzymał odmianę o zmniejszonych wymaganiach wzrostowych i jednocześnie penicylinooporną. V o u r e k a (1952) obserwował powstawanie chloromycetynooopornych form pod wpływem działania na bakterie fosgenem, dwutlenkiem wodoru itd.

R o w l e y (1952) zmieniał wrażliwość *E. coli* na penicylinę za pomocą naświetlania promieniami pozafiołkowymi.

Te oraz analogiczne fakty wskazują, że poza kierunkową adaptacją formy oporne mogą powstawać wówczas, gdy zmiany wywołane przez inne czynniki niejako przypadkowo dotyczą tych samych centrów komórkowych i mają podobny charakter jak zmiany powodowane przez czynnik, w stosunku do którego oporność się tworzy.

Przypuszczalnie jednak tego typu zmiany „przypadkowe", nieswoiście indukowane, odgrywają w naturze mniejszą znacznie rolę niż procesy adaptacji swoistej.

Problemowi powstawania wśród bakterii form opornych na środki chemoterapeutyczne i dezynfekcyjne poświęciliśmy stosunkowo dużo miejsca.

Usprawiedliwienia dla nadużycia cierpliwości czytelnika szukam jednak nie tylko w olbrzymim znaczeniu praktycznym tego zagadnienia, ale również w przeświadczeniu, że udało mi się wykazać, iż:

1) hipoteza mutacji spontanicznych nie jest, jak głosi Demerec, jedyną dającą się pogodzić z jego obserwacjami,

2) hipoteza adaptacji tłumaczy większość opisywanych faktów,

3) wielu zjawisk nie da się wytłumaczyć spontanicznym powstawaniem form opornych,

4) powstawanie form opornych może mieć bardzo różny mechanizm i może być wynikiem zarówno indukowanych zmian kierunkowych, jak i bezkierunkowych, przy czym zmiany kierunkowe zdają się odgrywać w naturze główną rolę,

5) stopień ustalenia dziedzicznego nabytej oporności jest różny.

Rozdział VIII

ZMIENNOŚĆ WŁAŚCIWA, MODYFIKACYJNA CZ. III

„What the «Lamarckian» objections amount to is an assertion that changes due to unknown causes are transmissible while those due to known causes are not" *).

Hinshelwood (1949)

4. POWSTAWANIE FORM OPORNYCH NA FAGI I KRYTYKA POGLĄDÓW LURII i DELBRÜCKA

Powstawanie oporności na fagi było przedmiotem obszernej pracy Lurii i Delbrücka (1943).

W pracy tej autorowie starali się znaleźć pośrednie dowody, świadczące za hipotezą powstawania form opornych na drodze przypadkowych mutacji lub za teorią oporności nabytej.

Zaznaczyć należy, że Luria i Delbrück wyraźnie przy tym podkreślili, iż wprowadzając termin „mutacja" nie wypowiadają się co do mechanizmu samego procesu, lecz jedynie określają nim nagłą zmianę, niezależną od zetknięcia się bakterii z fagiem.

Rozumowanie ich oparte jest w zasadzie na założeniu, że w przypadku mutacji — w szeregu jednakowych objętościowo małych hodowli — powinny po pewnym określonym czasie wystąpić bardzo duże wahania w ilości osobników opornych. Mianowicie mutacja przypadkowa może zajść w dowolnym momencie w czasie hodowli. Jeśli powstanie wcześniej — zmutowany osobnik rozmnoży się i da liczny klon, jeśli później — zmutowana komórka może nawet nie zdążyć się podzielić przed zakończeniem doświadczenia.

W przypadku adaptacji wahania ilości osobników opornych powinny według Lurii i Delbrücka być niewielkie.

Ponieważ doświadczalnie stwierdzono duże wahania ilości osobników fagoopornych w poszczególnych hodowlach, autorowie sądzą, że tym samym wykluczyli możliwość adaptacji.

Słuszność podstawowego założenia Lurii i Delbrücka została zakwestionowana przez Hinshelwooda (1949).

Krytyczne uwagi na ten temat znajdzie czytelnik w rozdziale uprzednim (str. 267).

Powtórzymy jedynie jeszcze raz, że chcąc uznać rozumowanie Lurii i Delbrücka za słuszne, należy założyć fizjologiczną równocenność wszystkich osobników populacji w każdym momencie, co jest niezgodne z faktami.

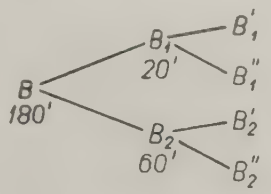
Taka niejednorodność populacji może mieć charakter nie genetyczny, lecz fizjologiczny. Źródłem jej jest przede wszystkim to, że podziały komórek nie są jednoczesne, zatem poszczególne osobniki znajdują się w różnym okresie wzrostu komórkowego.

*) „Zastrzeżenia «Lamarckistów» odnoszą się do poglądu, według którego zmiany wywoływane przez nieznane przyczyny są dziedziczne, powodowane zaś przez znane przyczyny nie są przekazywane dziedzicznie".

Drugą przyczyną niejednorodności jest nierównocenność dwóch siostrzanych, powstających przy podziale komórek.

Różnice pomiędzy siostrzanymi komórkami widoczne są już chociażby w niejednakowej szybkości ich podziału. Fakt ten podkreślają wszyscy badacze, którzy prowadzili obserwację ciągłą (bezpośrednią lub za pomocą filmu) nad rozwojem komórki bakteryjnej.

Ilustruje to schemat, uwidoczniający podział pojedynczej komórki *Bacillus cereus* - „*B*" na dwie pochodne B_1 i B_2 i kolejne ich podziały (rys. 15). Cyfry umieszczone przy literach oznaczają czas w minutach, po jakim nastąpił podział danej komórki (z Knaysi 1940).



Rys. 15 Nierównocenność bakterii siostrzanych po podziale. B, B_1, B' – kolejne pokolenia bakterii; cyfry przy literach oznaczają ilość minut, po jakiej dana bakteria uległa podziałowi.
Na podstawie danych Knaysi'ego (1940).

Dwie pochodne komórki różnią się jednak również innymi cechami. Już Benecke (1912) zwrócił uwagę na to, że wskutek dwubiegunowej budowy bakterii potomne komórki różnią się między sobą dość znacznie. Wynika to z tego, że w populacji, wywodzącej się z jednego osobnika, tylko dwie pary komórek mają na biegunach błonę i struktury stare, pochodzące od komórki macierzystej. Pozostałe są ograniczone na obu końcach błonami nowoutworzonymi w różnych momentach, w czasie kolejnych podziałów komórek. Również według Bisseta (1951) tylko jedna z potomnych komórek otrzymuje gotowe rzęski i struktury powierzchniowe. W drugiej, siostrzanej komórce twory te powstają na nowo.

W związku z powyższym Benecke (1912) specjalnie podkreślał istnienie różnic między poszczególnymi osobnikami populacji, pisząc: „...die Nachkommen einer einzigen Zelle, auch wenn sie unter ganz gleichen Bedingungen erwachsen sind, sich doch rücksichtlich ihrer Organisation unterscheiden. Dass also beim Übertragen von Zellen einer Einzellkultur in neue Verhältnisse doch nicht alle Zellen in identischer Weise auf die Veränderungen zu reagieren brauchen".

Knaysi (1951) opisuje nierówne podziały u bakterii, na przykład pączkowanie u *ca* 5 komórek azotobaktera, asymetryczny podział u *Bacillus megatherium*. Nierównocenność potomnych komórek jest oczywiście jeszcze wyraźniejsza w przypadku typowego pączkowania, jak na przykład w opisanym ostatnio procesie rozmnażania u *Rhodomicrobium vannieli* (Murray i Douglas 1950).

Wspominaliśmy już, że przy podziale u *E. coli* nie wszystkie pochodne komórki rozwijają się normalnie, niewielka część z nich zawsze przechodzi w postać *L* (Hughes 1952 a).

Każda zatem, nawet genetycznie homogenna populacja bakteryjna jest zawsze niejednorodna fizjologicznie. Żywotność poszczególnych osobników jest bardzo różna, tak że w 18–24-godzinnych hodowlach, zwykle stosowanych w badaniach, część komórek ulega zamieraniu, gdy tymczasem inne rosną i dzielą się bardzo intensywnie.

Jest zupełnie zatem oczywiste, że różna też będzie zdolność adaptacyjna, różny sposób reagowania komórek tej samej hodowli.

Jak wynika z rozważań Hinshelwooda, ilość osobników, które przystosują się do czynnika szkodliwego, na przykład antybiotyku lub faga, jest tym większa, im szybciej przebiega proces adaptacji — proces przestrojenia enzymów, a im wolniej następuje zamieranie komórek pod wpływem stosowanego czynnika.

Ilość ta zwykle będzie bardzo mała, a zatem nawet nieuchwytne dla nas różnice, zawsze istniejące pomiędzy poszczególnymi hodowlami, powodować będą duże wahania ilości zaadaptowanych w nich osobników. Wahania ilości opornych osobników muszą być zatem duże również w przypadku adaptacji.

Wobec takiego stanu rzeczy argument Luriia i Delbrücka staje się nieważny, a eksperyment ich dowodzi jedynie, że ilości osobników opornych w poszczególnych hodowlach są bardzo małe i podlegają dużym wahaniom. Fakt ten daje się jednak równie dobrze pogodzić z teorią adaptacji, jak i mutacji spontanicznych.

Dlatego też opis samego doświadczenia tych autorów byłby zbędny.

Praca Lea i Coulsona (1949), uzupełniająca hipotezę Luriia i Delbrücka teoretycznymi, statystycznymi obliczeniami, nie wnosi zasadniczo nic nowego.

Statystyczne sformułowania byłyby słuszne, gdyby słuszne było podstawowe założenie pracy. Ponieważ tak nie jest — rozpatrywanie ich byłoby zupełnie niepotrzebne.

Wspomnę jedynie, że tego rodzaju prace statystyczne zawierają często pewien błąd, nie matematyczny, lecz biologiczny.

Wnioski ich mianowicie dotyczą osobników, pojedynczych komórek, natomiast w obliczeniach operują „średnimi" i „przeciętnymi".

Obliczanie na przykład „średniej" częstości podziału może być dla wielu celów potrzebne i nawet konieczne, nie należy jednak zapominać, że poszczególne komórki dzielą się z bardzo różną częstością, a niektóre w pewnym momencie przestają się dzielić.

W rozważaniach biologicznych operowanie tylko średnimi, bez dokładnej analizy materiału, z którego średnią się oblicza, może prowadzić i zwykle prowadzi do błędnych wniosków.

Tak na przykład średnia śmiertelność, jednakowa dla dwu populacji ludzkich, może mieć w obu przypadkach całkiem inne znaczenie i inne czynniki mogą ją kształtować.

Populacje bakteryjne są pod tym względem również zróżnicowane wewnętrznie, a tylko analiza czynników składających się na taką średnią jest o wiele trudniejsza niż w eugenice.

Nie powinno to jednak usprawiedliwiać nieprzeprowadzania takiej analizy, o ile chce się operować średnimi w obliczeniach i wyciągać realne wnioski.

Na tym samym założeniu, co praca Luriia i Delbrücka, oparty jest bardziej bezpośredni eksperyment Newcomba (1949).

Wysiewał on na szereg płytek agarowych *E. coli* szczep *B/r* i inkubował je przez pewien czas, aby umożliwić umiarkowany rozwój mikrokolonii. Następnie w części płytek rozprowadzał materiał po powierzchni agaru za po-

mocą 0,1 ml jałowego roztworu soli fizjologicznej. Wszystkie płytki spryskiwał z kolei zawiesiną faga T_1, ponownie inkubował i liczył ilość kolonii fagoopornych bakterii, jakie pojawiły się na agarze. Stwierdził przy tym, że na płytkach, na których rozmazano mikrokolonie po powierzchni, pojawiło się znacznie więcej kolonii opornych niż na płytkach nie poddanych temu zabiegowi.

Wyniki otrzymane przez Newcomba ilustruje poniższa tabela, wzięta z jego pracy:

Ilość kolonii fagoopornych *E. coli*, jakie wyrosły na płytkach agarowych spryskanych zawiesiną faga T_1

Czas inkubacji mikrokolonii w godzinach	4		5		6	
Eksperyment	N	R	N	R	N	R
1	0	0	5	194	46	2 254
2	3	0	3	14	25	1 434
3	0	6	4	16	45	3 294
4	2	0	8	13	49	3 719
5	1	0	2	4	26	1 538
6	2	2	6	112	49	399
Razem	8	8	28	353	240	12 638

N — ilość kolonii opornych na płytkach, na których materiału nie rozprowadzano po powierzchni.
R — ilość kolonii opornych na płytkach, na których mikrokolonie rozmazano po powierzchni agaru.
wg Newcomba (1949), uproszczona.

Newcombe sądzi, że zjawisko to daje się wyjaśnić jedynie spontanicznym powstawaniem form fagoopornych.

Sprawdzimy, czy nie da się ono wytłumaczyć również przy przyjęciu adaptacyjnego mechanizmu tworzenia form fagoopornych.

Wykazano już powyżej, że tylko niewielka część komórek populacji może się zaadaptować.

Przypuśćmy, że na płytce jest „n" mikrokolonii oraz że w pewnym odsetku „K" mikrokolonii pewna ilość „a" osobników zdolna jest do adaptacji.

Wówczas na płytce, na której mikrokolonii nie roztarto po powierzchni agaru, okaże się tylko $\frac{n \cdot K}{100}$ kolonii opornych. Natomiast po rozprowadzeniu materiału po powierzchni agaru ilość kolonii opornych wyniesie „a" razy więcej, zatem $a \cdot \frac{n \cdot K}{100}$.

Ponadto oczywiste jest, że w miarę przedłużania czasu inkubacji mikrokolonii ilość osobników będzie się w nich zwiększała, a zatem większy będzie odsetek (K') kolonii zawierających osobniki zdolne do adaptacji oraz większa będzie w mikrokoloniach ilość osobników zdolnych do adaptacji (a').

Zatem po dłuższej inkubacji ilość kolonii opornych na płytkach z nierozstartym materiałem wynosić będzie $\frac{nK'}{100} \cdot \frac{nK}{100}$, ponieważ $K' > K$. Na płytkach,

na powierzchni których rozprowadzono materiał, ilość kolonii opornych równać się będzie $a' \cdot \frac{n \cdot K'}{100}$, przy czym $a' \cdot \frac{n \cdot K'}{100} > a \cdot \frac{n \cdot K}{100}$, gdyż $K' > K$ i $a' > a$.

Widzimy więc, że przyjmując za punkt wyjścia hipotezę adaptacji doszliśmy do wniosków najzupełniej zgodnych z wynikami otrzymanymi przez Newcomba.

W zakończeniu tych rozważań należy wspomnieć, że Luria i Delbrück starali się w swych badaniach określić częstość „mutacji", przy czym wielkość tę obliczali z ilości opornych osobników lub z odsetka opornych klonów, jakie otrzymywali pod koniec eksperymentu. Obie te metody doprowadziły do wyników niezgodnych ze sobą.

Starając się tę niezgodność uzasadnić, nie rezygnując jednocześnie z teorii spontanicznych mutacji, Newcombe (1948) w innej swej pracy wprowadził dodatkowe założenie, mianowicie że mutacja może uwidocznić się fenotypowo nie od razu, lecz dopiero po paru podziałach komórkowych.

Założenie to jest zupełnie dowolne, gdyż uzasadnieniem jego jest tylko to, że przy jego przyjęciu osiągnie się zgodność pomiędzy przewidywaną a faktycznie mierzoną częstością mutacji. Zrobiono zaś to założenie właśnie po to i w ten sposób, aby taką zgodność osiągnąć.

Jest to zatem przykład rozumowania obracającego się w kole zamkniętym, którego wartość naukowa zależy od słuszności podstawowej przesłanki — o spontanicznej naturze powstawania form fagoopornych. Ponieważ, jak widzieliśmy, słuszności tej przesłanki nie udowodniono, zatem praca Newcomba (1948), jako dotycząca wtórnych założeń i wniosków, nic zasadniczo nowego wnieść nie może.

Istotny postęp, jak możemy się spodziewać, zostanie osiągnięty jedynie przez badania nad mechanizmem działania bakteriofaga na komórkę bakteryjną.

Badania te wchodzą już właściwie w zakres wirusologii, toteż obecnie ograniczymy się tylko do przytoczenia paru przykładów.

Pod wpływem bakteriofaga, przed nastąpieniem lizy, bakterie dzielą się bardzo intensywnie. Taką fazę stymulacji, w czasie której zwiększa się też nasilenie metabolizmu i zdolności redukcyjnych, opisywali m. in. Fredericq i Gratia (1950) oraz cytowany przez nich Chodat (1939).

W już zakażonej komórce modyfikacji ulega metabolizm kwasów nukleinowych, przy czym destrukcji ulega substancja chromatynowa (Luria i Human 1950).

Mechanizm oporności bakterii na zakażenie fagiem może zależeć od zmiany fizyko-chemicznej natury struktur powierzchniowych, na przykład od utraty swoistego antygenu lub od wytworzenia substancji o charakterze śluzów (Dubos 1947).

Oporność może też być wynikiem uprzedniego zakażenia komórki. Przypadek taki opisali już w 1936 r. Burnet i Lush.

Ponadto formy oporne mogą pojawiać się dzięki zaburzeniom w metabolizmie — na przykład zakłóceniu przemiany Ca (Bordet i Rennaux 1928, Adams 1949), lub utracie zdolności do syntezy pewnych metabolitów (Lwoff 1946, Anderson 1949).

Szczególnie dużą rolę zdaje się odgrywać właśnie ten ostatni mechanizm. Lwoff (1946) stwierdził na przykład, że na 58 fagoopornych szczepów aż 27 utraciło właściwość syntezowania jakiegoś metabolitu.

Formy oporne różnią się też od postaci wyjściowych fagowrażliwych wieloma cechami. Różnice te dotyczą — obok wydolności aparatu enzymatycznego i składu antygenowego — często takich cech, jak hemolityczność (Friedberg i Vallen 1923, Sonnenschein 1929, Kliineberger 1930) lub toksynogenność (Freeman 1951, Freeman i Morse 1952, Hewitt 1952).

Można zatem przypuszczać, że fagooporność będzie się pojawiać zarówno jako skutek bezpośredniego oddziaływania faga (indukcja kierunkowa bezpośrednia), jak i pod wpływem wielu innych czynników, które wywołają w komórce zmiany prowadzące do oporności (indukcja kierunkowa pośrednia). Na przykład szczep, który utraci zdolność do syntezy tryptofanu, stanie się fagooporny, chociaż zmianę tę można wywołać za pomocą zupełnie innego czynnika indukującego.

Wreszcie oporność może być rezultatem bezkierunkowej indukcji. Przykładem mogą tu być prace: Demereca (1946) nad indukowaniem fagooporności za pomocą naświetlania bakterii promieniami pozafiolkowymi, Witkin (1947) nad wpływem licznych substancji (dezoksycholanu sodu, pyroniny Y, akryflawiny) na częstość pojawiania się form fagoopornych oraz Nowicka i Szilarda (1953) nad zwiększaniem się częstości mutacji pod wpływem puryn.

Tłumaczenie fagooporności zmianą jakiegoś specyficznego genu przesłania istotny, skomplikowany mechanizm tego procesu. Do tego ostatniego zagadnienia wrócimy jeszcze w rozdziale IX.

5. ZMIENNOŚĆ PIGMENTACJI KOLONII BAKTERYJNYCH

W części I rozdziału VII opisano parę przypadków zmienności dotyczącej zdolności do wytwarzania pigmentów, wywoływanej przez działanie substancji antybakteryjnych (penicylina, sulfamidy itp.). Podobną zmianę pigmentacji pod wpływem LiCl opisali Hoffstadt i Youmans (1938), a pod wpływem hodowli z innymi bakteriami — Witkin (1948).

Pojawiające się formy penicylinooporne, na przykład u gronkowca złocistego, wytwarzały zamiast sobie właściwego pigmentu barwik typowy dla odmiany *citreus* lub były w zupełności bezbarwne.

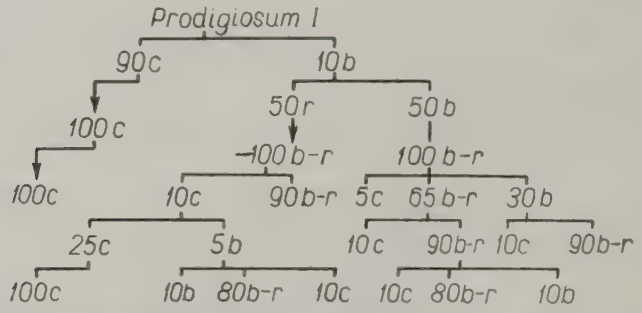
Zmianom własności pigmentotwórczych u bakterii poświęcono wiele prac, co tłumaczy się po części stosunkowo dużą łatwością izolowania i liczbowego określania pojawiających się odmian.

Znaczny odsetek tych prac dotyczy typowej bakterii barwikotwórczej, pałeczki cudownej (*Serratia marcescens*).

Pierwszy zajął się w sposób systematyczny tym zagadnieniem Beijerinck (1912), opisując kilkanaście odmian *S. marcescens* (*B. prodigiosum* według ówczesnej nomenklatury), różniących się barwą i formą kolonii. Uczony holenderski interpretował tę zmienność jako bezkierunkową, skokową mutację, przypisując środowisku w zasadzie tylko rolę czynnika selekcjonującego.

Badania takie prowadzili też Schottelius, Wasserzug, Laurent (wg Eisenberg 1914a), Hefferan (1903), Davies (1901), Wolff (1909), przy czym okazało się, że poddanie bakterii działaniu promieni słonecznych, substancji trujących (np. $CuSO_4$) lub podwyższonej temperatury (56 — 63°) powoduje utratę pigmentu.

Starannej analizie poddał ten przypadek zmienności Eisenberg (1914 a). Stwierdził on dość dużą stałość odmiany czerwonej oraz stałe rozszczepianie form białych i różowych (rys. 16).



Rys. 16. Rozszczepianie jednego z szczepów *prodigiosum*; c — kolonie czerwone, b — kolonie białe, b-r — kolonie różowe. Cyfry przy literach oznaczają jaki procent kolonii w wysiewie przypadał na dany typ. Wg Eisenberga (1914 a)

Ogółem wyróżnił 22 odmiany odznaczające się pigmentacją, formą, wielkością i konsystencją kolonii.

Wykazał przy tym, że skłonność do zmienności jest cechą szczepową. Obok szczepów niemal nie dających odmian spotykano takie, jak na przykład szczep „*Kiel*", które stale ulegały rozszczepieniu.

Eisenberg stwierdził też, że pod wpływem 1 — 3 pasaży na podłożu zawierającym 0,5 — 1% fioletu krystalicznego, safraniny, fuksyny itp. zwiększa się częstość pojawiania i ilość odmian nawet u szczepów małozmiennych. Podobnie na częstość powstawania odmian wpływa alkalizacja podłoża oraz wiek hodowli.

Na podstawie powyższych obserwacji Eisenberg uważa, że teoria mutacyjna Beijerincka nie ma oparcia w faktach doświadczalnych.

Według niego zmienność u *S. marcescens* zależy zarówno od czynników środowiskowych, jak i od wewnętrznych, wrodzonych właściwości bakterii, określających skłonność do podlegania zmianom.

Najobszerniejsze badania nad problemem zmienności pigmentacji u tej bakterii zawdzięczamy prawdopodobnie Bunting (1940, 1942, 1946).

W serii prac potwierdziła ona obserwację Eisenberga, zgodnie z którą charakter zmienności jest cechą szczepową.

Ponadto ustaliła, że zmienność barwikotwórcza jest niezależna od przemiany faz ($S \rightarrow R$).

Wykazała, że zmiany u szczepu *274* dotyczą większości komórek populacji i że odznaczają się wybitną regularnością, uzależnioną od okresów rozwojowych hodowli.

Według B u n t i n g prawdopodobne jest, że zmiany te wywoływane są przez gromadzący się w podłożu jakiś produkt metabolizmu bakterii, choć nie udało się jej określić natury tego czynnika.

Na zmienność, jak się okazało, wpływa również obecność niektórych substancji przeciwbakteryjnych, na przykład siarczanu laurylowego.

W konkluzji B u n t i n g dochodzi do wniosku, że zmienność *S. marcescens* jest raczej zależna od ośrodków cytoplazmatycznych.

Godne głębszej uwagi jest też alternatywne wyjaśnienie proponowane przez B u n t i n g, przyrównujące ten typ zmienności do procesu różnicowania komórek.

Proces różnicowania komórek jest przedmiotem zainteresowania embriologii. W związku z tym przytoczę pogląd N e e d h a m a, wedle którego różnica między genetyką a embriologią w zasadzie polega na tym, że pierwsza z nich bada czynniki indukujące wewnątrzkomórkowe, zaś druga – czynniki indukujące, dyfundujące pozakomórkowo.

Słuszna wydaje się przeto uwaga D a v i e s a, wygłoszona w czasie dyskusji nad referatem B u n t i n g (1946), że „bakteriologia powinna raczej oświecić drogę embriologii, niż zapożyczać laskę od genetyki", tym bardziej że „laska" genetyków nie zawsze pomaga mikrobiologom w dotarciu do zamierzonego celu.

O tym, że koncepcja B u n t i n g może się okazać słuszna, świadczy na przykład praca B y a t t a et al (1948), w której *S. albus* przechodził w odmianę żółtą pod wpływem wyciągu z komórek *S. aureus*.

Zmienność barwikotwórcza przypuszczalnie może zatem mieć różny mechanizm. Pogląd jednak, według którego wytwarzanie pigmentu miałoby być zależne od jakiegoś odrębnego genu, który spontanicznie mutując wywołuje w fenotypie zmianę barwy, trudno byłoby uznać za uzasadniony.

Trudno byłoby na przykład wytłumaczyć, stając na pozycji genetyków, skojarzenie dziedzicznie ustalonej utraty pigmentu ze zmianami innych własności (penicylinooporność, sulfamidooporność, zdolność do fermentacji różnych cukrów itp.), powodowanymi według genetyków również przez niezależne mutacje odrębnych genów.

Musielibyśmy wtedy przyjąć: albo że 1) mutacje różnych genów nie są niezależne, co przeczyłoby jednak jednemu z podstawowych założeń genetyków, lub też że 2) przynajmniej część tych mutacji jest jednak wywoływana przez dany czynnik (np. penicylinę), co przeczy drugiemu podstawowemu założeniu genetyki, że środowisko nie wpływa bezpośrednio modyfikująco na geny.

Nie wyjaśniona byłaby również duża częstotliwość i regularność powstawania odmian w czasie rozwoju hodowli (B u n t i n g 1946) oraz zależność tego procesu od czynników szkodliwych.

Reasumując nasze rozważania nad zmiennością własności barwikotwórczych dochodzimy do wniosku, że genetyka nie może nam właściwie okazać żadnej pomocy w wyjaśnieniu mechanizmu tego procesu.

Rozwiązania tego, jak i poprzednio omawianych problemów dotyczących zmienności, szukać należy w badaniach nad metabolizmem bakterii i czynnikami modyfikującymi procesy enzymatyczne.

6. ZMIENNOŚĆ ANTYGENÓW BAKTERYJNYCH

Zmiany, jakim podlegają antygeny, mogą mieć różny charakter, a zatem przypuszczalnie również różny będzie mechanizm tych przemian.

Zmiany własności antygenowych bakterii można schematycznie podzielić na pięć grup:

a) Zmienność kierunkowa, regulowana i odwracalna, związana z rozwojem osobnika lub hodowli.

Do niej zaliczamy zmiany antygenów zachodzące przy przemianie formy wegetatywnej w przetrwalnik oraz przy przechodzeniu bakterii z jednej fazy rozwojowej w drugą, na przykład $S \rightarrow R$, $R \rightarrow G$, itp.

Ten typ przemian, zmienność rozwojowo-przystosowawcza, omówiony już został w rozdziale IV, toteż obecnie nie będziemy do tego zagadnienia wracali.

b) Zmienność prowadząca do zjawiska paraaglutynacji.

c) Zmienność modyfikacyjna, zachodzą a podczas rewersji form przesączalnych w postać bakteryjną.

d) Zmienność indukowana, wywoływana przez zadziałanie odpowiednimi surowicami odpornościowymi.

e) Zmienność transformacyjna, powodowana przez działanie swoistego czynnika rozpuszczalnego o charakterze kwasu nukleinowego.

Ten ostatni typ zmienności zostanie omówiony w rozdziale X jako przypadek przenoszenia cech.

Paraaglutynacja, zjawisko polegające na tym, że bakteria hodowana z innym gatunkiem bakterii w kulturze mieszanej nabywa własności antygenowych tego gatunku, została opisana po raz pierwszy przez Zilbera (1928) pod nazwą paraimmunitetu.

Zilber hodując na przykład *Proteus* razem z *S. typhi*, otrzymał szczep odmieńca antygenowo zbliżony do pałeczki durowej. Podobnie *Proteus* hodowany w woreczku kolodionowym, wszytym do jamy ciała świnki morskiej zakażonej *Rickettsia*, z czasem upodabniał się pod względem antygenowym do zarazka duru osutkowego i ulegał zlepianiu w surowicy chorych na dur. Tę nowonabytą cechę zachował wspomniany szczep odmieńca przez 18 lat.

Problemowi paraaglutynacji poświęcono bardzo dużo prac. Szczególnie duże zasługi w tej dziedzinie położyli badacze radzieccy.

Z polskich mikrobiologów wymienić należy na pierwszym miejscu Szymanowskiego.

Już w 1928 r. (Frendzlowa i Szymanowski) opisał on nabywanie nowych cech antygenowych przez *E. coli*, hodowane w hodowlach mieszanych z *S. typhi* lub pałeczką *Flexnera*.

Podobny wpływ wywierało hodowanie *E. coli* w przesączach kultur normalnych, lub też zlizowanych przez fagi obu tych bakterii.

Następnie stwierdzono upodobnianie antygenów *Brucella abortus* do antygenów *S. typhi* przy mieszanej hodowli obu bakterii oraz przebadano rolę pewnych czynników dysgenetycznych (np. LiCl) w zjawisku paraaglutynacji (Frendzlowa i Szymanowski 1931 a, b).

Przegląd dawniejszej literatury na ten temat znajdzie czytelnik w pracy Szymanowskiego z 1930 r.

Niestety, mechanizm paraaglutynacji i pokrewnych zjawisk jest dotychczas mało poznany.

Porównywanie paraaglutynacji do procesu transformacji, opisanej u pneumokoków, wydaje się nieuzasadnione. Zmiany zachodzące przy paraaglutynacji odznaczają się stopniowością, wolnym tempem narastania i różnym stopniem ustalenia dziedzicznego, czym różnią się wyraźnie od zmian transformacyjnych.

Jest to w każdym bądź razie typowa zmienność kierunkowa, indukowana przez cały kompleks do dziś jeszcze nie przeanalizowanych czynników zewnętrznych.

Znaczenie biologiczne tej zmienności jest również niejasne.

Inny charakter mają przypuszczalnie zmiany antygenów wywołane przez zadziałanie surowicami odpornościowymi.

Dawno już stwierdzono łatwość, z jaką zanikają antygeny rzęskowe, często nieodwracalnie (W e i l i F e l i x 1917, G r u s c h k a 1922). Jednakże dopiero B r u n e r i E d w a r d s (1941) stwierdzili przemianę antygenów rzęskowych, najpierw u *S. paratyphi A*.

W tym celu hodowali oni poddawaną badaniu bakterię w półpłynnej pożywce agarowej z dużym dodatkiem surowicy odpornościowej, uprzednio tak wyabsorbowanej, aby zawierała przeciwciało lub przeciwciała skierowane tylko przeciw antygenowi, którego zmianę pragnęli spowodować.

Na przykład *S. paratyphi A* hodowana w obecności surowicy zawierającej przeciwciało przeciw antygenowi fazy *1* typu *Bispebjerg* uzyskiwała nowy, nieznany antygen rzęskowy, określony przez badaczy jako faza *2*.

Stosując różne kombinacje surowic w różny sposób absorbowanych okazało się możliwe otrzymanie jeszcze dwóch dalszych faz, *3* i *4*, oraz powrotne przeprowadzenie bakterii w fazę *1*.

W następnych pracach doniesiono o przemianie antygenów rzęskowych, przy czym powstawały nowe antygeny, właściwe dla innych „gatunków" *Salmonella*.

Na przykład *S. oranienburg* (VI, VII: m, t) przeprowadzono w *S. montevideo* (VI, VII: m, g, s) — B r u n e r (1949).

S. legdam przemieniono w *S. enteritidis, S. moscow* i *S. dublin* (B r u n e r 1952).

Hodując *S. california* w obecności przeciwciała anty-g otrzymano zmianę formuły antygenów rzęskowy h z m, t, g na m, t, a więc w *S. oranienburg*. W podobny sposób z *S. california* otrzymano *S. budapest* i *S. banana* (B r u n e r 1953).

Za pomocą tej metody okazało się możliwe zmienianie nie tylko antygenów rzęskowych, lecz również i antygenów somatycznych „*O*".

Tak więc hodując *S. anatum* (III, X, XXVI: e, h – 1,6) w obecności stężonej surowicy anty — (III, X, XXVI), absorbowanej uprzednio pałeczkami o antygenach III i XV, otrzymano *S. newington* (III XV: e, h – 1,6). Działając z kolei na nowootrzymany typ surowicą anty - (III, XV) wywołano powrotną przemianę w *S. anatum*.

W taki sam sposób z *S. meleagridis* (III, X, XXV: e, h – 1, w) powstała *S. cambridge* (III, XV: e, h — 1. w) — B r u n e r i E d w a r d s (1948).

B r u n e r skłonny jest uważać, że przemiana antygenu rzęskowego polega na pobudzeniu bakterii do syntezy swoistego białka rzęsek, które przodkowie tej bakterii posiadali.

Byłby to więc pewnego rodzaju indukowany atawizm.

Przemiany antygenów somatycznych *O* wiąże natomiast ze zjawiskiem transformacji, podkreślając, że stosowane przez niego surowice uprzednio absorbowano, zatem musiały one zawierać produkty metabolizmu i autolizy bakterii stosowanych do absorpcji.

Zjawisko to dotychczas zostało opisane tylko w grupie *Salmonella* i poza pracami B r u n e r a i jego szkoły nie było przez nikogo bliżej i dokładniej badane.

Jakiekolwiek bądź hipotezy wobec braku dostatecznych danych doświadczalnych miałyby więc charakter wybitnie spekulacyjny.

Jeszcze mniej dokładnie zbadane zostały przypadki zmienności antygenów, spotykane przy rewersji form przesączalnych bakterii w postać pałeczkowatą (np. I w a n o w a 1953, K a l i n a 1949 i inne przykłady wzmiankowane w rozdziale IV).

Przypuszczalnie bakterie znajdując się w fazie involucyjno-regeneracyjnej i w okresie rewersji podlegają stosunkowo łatwo zmianom pod wpływem różnych czynników.

Świadczą o tym nie tylko przemiany cech antygenowych, ale jeszcze częściej spotykane zmiany własności fizjologicznych, zachodzące przy przejściu form przesączalnych w bakteryjne.

Wszystkie wzmiankowane tu przypadki zmienności antygenowej mają charakter wybitnie kierunkowy i indukowane są przez czynniki środowiskowe. Wiązanie tych zmian z mutacjami genów nie miałoby też żadnego uzasadnienia.

7. MUTILACJE

W roku 1927 wybitny genetyk M u l l e r (wg E v a n s 1949) stwierdził zwiększenie częstości mutacji, powodowane przez promienie Roentgena.

Od tego czasu zbadano wiele czynników wpływających podobnie modyfikująco na żywe organizmy (promieniowanie pozafiołkowe, promienie γ, β, α).

Czynniki te nazwano mutogennymi. Prócz promieniowania w zbliżony sposób, jak się okazało, działają pewne substancje, na przykład iperyt, nazwane ciałami lub jadami radiomimetycznymi.

Mutogenne działanie tego rodzaju bodźców na bakterie zostało dokładnie omówione w pracach D e m e r e c a i L a t a r j e t (1946), T a t u m a (1946), L u r i i (1946) i L e b i e d i e w a (1947, 1948).

Według wielu genetyków są to jedyne czynniki zewnętrzne, zdolne do wywoływania zmian dziedzicznych, powodujące modyfikacje w strukturze nukleoproteidów genów.

Przekonaliśmy się już rozpatrując różne przykłady zmienności u bakterii, że w rzeczywistości nie są to bynajmniej jedyne czynniki wywołujące zmiany.

Problem ten rozpatrzymy w drugiej części rozdziału IX.

Obecnie zaznaczymy, że zmiany wywoływane przez tak zwane mutogeny, niezależnie od natury czynnika, charakteryzują się pewną wspólną cechą. Są to mianowicie zmiany polegające najczęściej na utracie jakiegoś enzymu,

utracie zdolności do syntezy metabolitu itp. Zmiany te mają zatem charakter uszkodzenia, okaleczenia.

Tego typu dziedzicznie ustalone zmiany uszkodzeniowe nazywamy mutilacjami.

Częstokroć dotyczą one wyraźnych i łatwo poddających się badaniu cech, pojawiają się w sposób nagły i skokowy. Obecnie rozporządzamy szeregiem metod, umożliwiających wykrywanie takich „kalekich" mutantów. Wymienić tu należy prace Lederberga i Tatuma (1945), Davisa (1949) i Catchesidea (1951). Wszystkie one ułatwiają znalezienie nielicznych, powstających pod wpływem środków mutogennych odmian „defektywnych", niezdolnych do syntezy pewnych metabolitów.

Lederberg i Tatum wysiewali badaną populację bakteryjną na „agar minimalny" z pożywką syntetyczną, podtrzymujący wzrost jedynie macierzystych prototrofów. Po otrzymaniu minimalnego, ale już widocznego wzrostu prototrofów znakuje się ich kolonie, a na podłoże nawarstwia się upłyniony agar, zawierający metabolit, niezdolność do syntezy którego ma być nowonabytą cechą poszukiwanego mutanta. Mutant ten wytworzy wówczas nowe kolonie, które łatwo wyszukać wśród poznakowanych kolonii prototrofów.

Davis działał na populację wysianą na syntetyczną „minimalną" pożywkę — penicyliną. Penicylina niszczy tylko te bakterie, które znajdują się w stadium wzrostu, zatem w warunkach doświadczenia — tylko prototrofy zdolne do wzrostu na użytym podłożu. Po zabiciu prototrofów inaktywuje się antybiotyk za pomocą penicylinazy i dodaje się metabolitu w celu umożliwienia rozwoju „defektywnym" mutantom.

Metoda Catchesidea polega na stosowaniu silnie rozcieńczonej „pełnej" pożywki, zawierającej również i odpowiednie czynniki wzrostowe. Mutanty defektywne na takim podłożu dają maleńkie kolonie, łatwe do wyróżnienia wśród dużych, normalnie rozwiniętych kolonii prototrofów.

Zjawisko mutilacji ma w naturze przypuszczalnie bez porównania mniejsze znaczenie niż inne mechanizmy zmienności. Z uwagi jednak na bardzo dużą ilość poświęconych mu prac uważam za celowe rozpatrzenie tego problemu nieco dokładniej, niżby należało to zrobić, uwzględniając tylko ewentualną rolę mutilacji w ewolucji gatunków.

Stosunkowo najlepiej zbadano zmienność wywoływaną przez różnego rodzaju promieniowanie — czy to elektromagnetyczne (promienie pozafiołkowe, X, γ), czy też korpuskularne (β, α, neutronowe).

Zabójczy efekt naświetlania drobnoustrojów promieniami pozafiołkowymi pierwszy stwierdził Becquerel (1910). Okazało się jednak, że jeśli odpowiednio dobrać czas i intensywność naświetlania, część bakterii przeżywa, a wśród nich pojawia się stosunkowo duży odsetek form zmienionych (Tatum 1946, Demerec i Latarjet 1946, Luria 1946, Grenadier et al 1953).

Podobny efekt, choć silniejszy, daje działanie bardziej przenikliwymi, „twardszymi" promieniami X oraz γ i β.

We wszystkich tych przypadkach mechanizm działania promieni jest podobny (Grajewski 1954).

Działają one albo bezpośrednio na makromolekuły cytoplazmy i jądra lub też pośrednio — poprzez jonizację drobin rozpuszczalnika (np. wody), wtórnie oddziałują na strukturę cząstek ciał białkowych.

Promieniowanie, przenikając przez jakąś substancję, powoduje oderwanie elektronu z zewnętrznej elektronowej warstwy drobiny, czyli powoduje jej jonizację. Cząsteczka taka uzyskuje dodatni ładunek elektryczny; jednocześnie oderwany od niej elektron przyłącza się do innej drobiny, nadając jej ładunek ujemny. Drobiny z niezobojętnionymi ładunkami wchodzą łatwo w reakcje z wieloma znajdującymi się w środowisku grupami czy rodnikami, ulegają zatem pewnej modyfikacji chemicznej. Ponadto drobiny pod wpływem promieni pozafiołkowych ulegają „wzbudzeniu", przy czym zachodzą w nich procesy prowadzące do obniżenia poziomu energii wewnętrznej (np. fluorescencja, rozpad drobiny, wewnętrzne przegrupowanie atomów i rodników w drobinie, przekazanie energii innym drobinom).

Promieniowanie prowadzić zatem musi do odkształceń makromolekuł protoplazmy, a więc do zmian tych czynności fizjologicznych komórki, które są uwarunkowane strukturą danych makromolekuł (enzymów, nukleoproteidów).

Efekt taki może być wynikiem bezpośredniego działania promieni jonizujących na biologicznie czynne drobiny. Świadczą o tym liczne obserwacje. G r a j e w s k i (1947, 1948) stwierdził, że bakteriobójcze działanie promieni β na *Salmonella bresslau* jest w temperaturze — 187° zaledwie 2 — 2,5 raza słabsze niż w ciepłocie pokojowej. D e v i et al (1947) wykazał mutogenny efekt przy naświetlaniu promieniami Roentgena wysuszonych bakterii.

Zachodzenie jakichkolwiek bądź reakcji w protoplazmie zamrożonej lub odwodnionej jest niemożliwe. Wszelkie zmiany, ujawniające się po przeniesieniu bakterii do warunków biogennych, mają w tym przypadku swe źródło w bezpośrednim odkształceniu aktywnych biologicznie struktur.

Możliwe jest jednak również, może nawet częściej zachodzące niż bezpośrednie — pośrednie działanie promieni jonizujących.

Wiadomo, że pod wpływem tych promieni drobina wody ulega rozszczepieniu, przy czym tworzy się wolny rodnik OH, a następnie, w obecności tlenu, dwutlenek wodoru.

Inaktywujący wpływ krótkofalowego promieniowania na enzymy i organizmy próbowano tłumaczyć utlenianiem przez tworzący się H_2O_2 grup sulfhydrylowych (−SH), warunkujących aktywność wielu enzymów (H o l m e s 1950, B a r r o n 1951, G r a j e w s k i 1954).

Przemawia za tym fakt ochronnego działania niektórych substancji, zdolnych do reaktywowania unieczynnionych przez utlenienie grup tiolowych.

Tak więc bakteriobójcze działanie promieniowania (np. roentgenowskiego) osłabiają czynniki redukujące, jak cysteina, glutation, 2,3-dwumerkaptopropanol (B u r r e t, S t a p l e t o n i H o l l a e n d e r 1951 oraz F o r s s b e r g 1950 — wg G r a j e w s k i e g o 1954).

Sprowadzenie mechanizmu oddziaływania promieni na układy biologiczne jedynie do inaktywacji grup sulfhydrylowych wskutek ich utlenienia przez produkty jonizacji wody wydaje się jednak zbytnim uproszczeniem (G r a j e w s k i 1954).

Wskazują na to obserwacje, według których *E. coli* w warunkach uniemożliwiających utlenienie (w nieobecności tlenu) są wprawdzie oporniejsze na działanie promieni Roentgena i γ, ale w stosunku do promieni β pozostają tak samo wrażliwe, jak w atmosferze tlenowej (Grajewski i Oczinska 1952). Grajewski (1954) wykazał również, że poddana promieniowaniu woda lub roztwory soli nie wywierają następnie toksycznego wpływu na organizmy.

Apler (1952, wg Grajewskiego 1954) sądzi, że promienie Roentgena modyfikują drobiny kwasu dezoksyrybozonukleinowego i uczulają je na późniejsze utleniające działanie tworzącego się w środowisku H_2O_2.

Według Wyss et al (1947, 1948, Clark, Wyss i Stone 1949) w podłożu pod wpływem promieniowania powstają organiczne substancje o charakterze nadtlenków, wtórnie działające na grupy SH.

Lovelass i Revel (1949) przypuszczają, że promieniowanie, podobnie jak substancje radiomimetyczne, powoduje alkylowanie grup SH, COOH, HPO_3, szczególnie silnie wpływając na grupy fosforanowe kwasów nukleinowych.

Stwierdzono też, że promienie Roentgena blokują przemianę kwasu rybozonukleinowego (KRN) w dezoksyrybozonukleinowy (KDRN) oraz powodują depolimeryzację KDRN (Mitchell 1943, Errera 1946 wg Brachet 1947, Broadfield i Errera 1949).

Oddziaływaniem na kwasy nukleinowe można byłoby tłumaczyć efekt naświetlania promieniami pozafiołkowymi wirusów. Wskazuje na to fakt największej aktywności promieni o długości fali *ca* 2650 Å, a więc wybiórczo absorbowanej przez kwasy nukleinowe. Natomiast na bakterie najsilniej wpływają promienie absorbowane przez mieszaninę białek i kwasów nukleinowych (Hollaender 1945), co świadczy, że efekt promieniowania zależny jest w tym przypadku od zmian w obu substancjach.

W każdym bądź razie wykazano bezspornie, że efekt bakteriobójczy i mutogenny promieniowania zależy w dużym stopniu od składu podłoża, a więc wynika również z pośredniego oddziaływania promieni jonizujących.

Kwestia ta jest o tyle ważna, że wielu badaczy, szczególnie stojących na stanowisku genetyki formalnej, przyjmuje zasadniczo jedynie możliwość bezpośredniego działania promieniowania.

Tłumaczą oni efekt zabójczy lub „mutogenny" za pomocą tak zwanej teorii „trafienia" (teoria „tarczy", *Treffertheorie, hit-theory*). Teoria ta głosi że biologiczny efekt promieniowania powodowany jest przez jonizację w określonym rejonie ciała lub komórki (Dessauer 1923, Crowther 1924 — wg Lea i Catcheside'a 1945).

Teoria trafienia jest niezbędna dla wytłumaczenia efektu promieniowania, jeśli stanąć na stanowisku ortodoksyjnej genetyki, uznającym autonomię i niezależność nosiciela cech dziedzicznych — genu.

Teoria ta jednak w odniesieniu do wielu organizmów okazała się niewystarczająca, co zmusiło jej zwolenników do założenia, że istnieją organizmy z pojedynczym elementem czułym na trafienie (np. bakterie) i z wieloma takimi elementami (*many-hits organisms*).

Według Catcheside'a (1951) bakterie są organizmami o jednym wrażliwym elemencie, którego trafienie powoduje śmierć lub mutację

komórki. Wniosek ten opiera on na obserwacji, zgodnie z którą pomiędzy częstością mutacji a dawką promieniowania istnieje zależność liniowa.

Teoria „trafienia", podobnie jak i inne omówione już przypadki stosowania pojęć genetyki do tłumaczenia zjawisk zmienności u bakterii, jest zbytnim uproszczeniem, a głównym jej uzasadnieniem jest dążenie genetyków do stworzenia „ogólnobiologicznej" koncepcji dziedziczności.

Liniowa zależność między dawką promieniowania a częstością mutacji daje się również dobrze uzasadnić bez uznawania tej teorii.

Ponadto „jednoelementowość" (*one-hit*) bakterii trudno pogodzić z dziś już dobrze znaną i wielekroć potwierdzaną „wielonukleoidowością" licznych bakterii. Gdybyśmy nawet chcieli przyjąć teorię trafienia i konsekwentnie z niej wynikające uznanie bakterii za *one-hit organisms*, mające jeden element „wrażliwy" znajdujący się oczywiście w nukleoidzie — nie wytłumaczony pozostałby fakt, że wielonukleoidowe bakterie przy działaniu promieni zachowują się tak, jakby były wyposażone tylko w pojedynczy nukleoid.

Teorię tę poddał ostatnio ostrej krytyce Grajewski (1954). Zwraca on uwagę na stopniowość uszkodzenia powodowanego przez promieniowanie, obserwowaną przez niego i przez cytowanych w jego pracy Miedwiediewa, Mejsela i Szechtmanowa (1952), oraz na to, że u *E. coli* poddanych działaniu promieni β stwierdzono zmianę wrażliwości na wysokie i niskie temperatury oraz na ponowne naświetlanie.

Charakterystyczną krzywą zamierania pod wpływem promieniowania tłumaczy Grajewski, podobnie jak Peacocke i Hinshelwood (1948), indywidualnymi różnicami we wrażliwości poszczególnych osobników populacji.

Przeciw teorii „trafienia" przemawiają również obserwacje Peacocke'a i Hinshelwooda (1948) nad odwracalnością zmian wywoływanych przez promieniowanie u *Aerobacter*.

Najważniejsze jednak, że „zabite" przez promieniowanie bakterie są w rzeczywistości zdolne do rozwoju, o ile tylko zadziałać na nie odpowiednimi czynnikami środowiskowymi.

Obserwacje takie wywodzą się z badań Kleina i Pereza (1948), i Pereza et al (1949) nad reaktywacją za pomocą dwumerkaptopropanolu (BAL'u) lub tioglikolanu sodu „zabitych" działaniem $HgCl_2$ pneumokoków.

Podobnie okazało się możliwe reaktywowanie „zabitych" przez promienie pozafiołkowe pałeczek okrężnicy, i to nie za pomocą BAL'u, lecz przez umieszczanie takich bakterii w podłożu zawierającym pewne substancje (cytryniany, szczawiooctany itp.), normalnie występujące jako metabolity pośrednie w cyklu Krebsa (Heinmets 1953). Ten sam autor wykazał następnie (Heinmets 1954) możliwość reaktywacji w ten sam sposób bakterii „zabitych" przez działanie podwyższonej temperatury, chloru, H_2O_2, etanolu i zefiranu.

Stwierdzamy zatem, że „zamieranie" bakterii pod wpływem promieni nie tylko nie jest wynikiem „trafienia" w jakiś hipotetyczny pojedynczy wrażliwy element, ale w ogóle nie jest zamieraniem. Jest to proces stopniowy i w dużej mierze odwracalny nawet pod wpływem normalnych metabolitów.

Reaktywacja ta nie jest zatem wynikiem „odblokowania" wrażliwego, jedynego elementu, lecz raczej odbudowy unieczynnionych enzymów.

Prócz tego efekt promieniowania pod tym względem jest podobny do efektu tak niespecyficznych ogólnoplazmatycznych środków bakteriobójczych, jak chlor, czy zefiran, nawet według najbardziej skrajnych zwolenników teorii trafienia nie działających bynajmniej wybiórczo na postulowany przez nich „jedyny element wrażliwy".

Jeszcze jedną obserwację, przemawiającą przeciw teorii trafienia, dostarczył Davis (1950). Stwierdził on, że odmiany *E. coli*, nie mające zdolności do syntezy pewnych metabolitów, nabywają tej zdolności, gdy poddać je naświetlaniu promieniami pozafiołkowymi przy obecności w podłożu minimalnych ilości danego metabolitu.

Ilustruje to poniższe zestawienie, sporządzone na podstawie danych Davisa

Naświetlanie promieniami pozafiołkowymi	Ilość wysianych komórek *E. coli* niezdolnych do syntezy tryptofanu	Podłoże, na które wysiano bakterie	Czas inkubacji	Ilość kolonii prototrofów
nie naświetlane	10^8	agar „minimalny"	3 dni	1 — 3
„	10^8	„ „ z 0,01 — 0,5 γ/ml tryptofanu	„	1 — 6
Naświetlane, 50% zabitych	10^8	agar minimalny	„	0 — 20
„	10^8	„ „ z 0,01 — 0,5 γ/ml tryptofanu	„	200 — 600

Podobne wyniki otrzymano z innymi metabolitami i odpowiednimi „defektywnymi" szczepami *E. coli*.

Metabolity stosowane tu nie działają według genetyków na ośrodki wrażliwe (geny), a niewątpliwie oddziałują modyfikująco na odpowiednie białka proenzymów lub plazmatyczne ośrodki enzymotwórcze.

Zjawiska tego zatem nie dałoby się wyjaśnić ze stanowiska genetyków i wywodzącej się z niego teorii trafienia.

Uwagi dotyczące wpływu promieniowania na bakterie dałoby się prawdopodobnie zastosować do zjawisk zmienności wywoływanych przez iperyt.

Mutacje u bakterii można spowodować również za pomocą wielu innych związków nie posiadających charakteru trucizn radiomimetycznych, np. trypaflawiny, acenaftenu, chloralhydratu, cyjanków, wody utlenionej, barwików anilinowych. Ciała te zakłócają proces podziału komórek, prowadząc często do wytwarzania form nitkowatych lub dużych ciał kulistych, oraz naruszają metabolizm kwasów nukleinowych (Ark 1946, Lovelass i Revell 1949, Parvis 1953, Cavalli i Falcone 1953, Witkin 1946, Ephrussi et al 1949, 1950, Słonimski 1949, Słonimski i Ephrussi 1950).

Widzimy zatem, że dziedzicznie ustalone zmiany uszkodzeniowe (mutilacje) mogą być wywoływane zarówno przez tak zwane trucizny radiomimetyczne, jak i przez szereg innych substancji, niewątpliwie działających bezpośrednio na enzymy oraz na plazmatyczne nukleoproteidowe ośrodki korelujące.

Stopniowość zmian, ich odwracalność, zależność od obecności w podłożu normalnych metabolitów — świadczy, że zmienność wywoływana przez tak zwane mutogeny jest zależna od naruszenia równowagi procesów enzymatycznych, od uszkodzenia różnorakich ośrodków plazmatycznych a niekiedy i jądrowych.

Teoria „trafienia" tłumaczy zaledwie część obserwowanych zjawisk, z pozostałymi zaś nie daje się pogodzić. Słuszniejsze też wydaje się stanowisko wielu badaczy, np. Hinshelwooda i Grajewskiego, szukających wyjaśnienia w badaniach nad kinetyką i kierunkiem procesów enzymatycznych.

Stwierdziliśmy już, że mutacje wywoływane przez „mutogenne" ciała nie są, jak twierdzą genetycy, jedynymi przykładami indukowanej zmienności modyfikacyjnej.

Co więcej — okazało się, że mutilacje nie wynikają z uszkodzenia jakiegoś pojedynczego wrażliwego elementu, że nie stosują się do prawa „wszystko lub nic", lecz że podobnie jak zmiany indukowane przez substancje nie-„mutogenne" powodowane są przez naruszenie łańcuchów enzymatycznych czy to wskutek bezpośredniej modyfikacji drobin zaczynów, czy też odkształceń w nukleoproteidowych ośrodkach ich syntezy.

Mutilacje są zatem typowym przykładem bezkierunkowej indukowanej zmienności. Jak wskazują wspomniane już doświadczenia Davisa (1950), zmienność ta może uzyskać cechy kierunkowości pod wpływem odpowiednich kofaktorów. Wzbudzenie przez promieniowanie drobin proenzymu lub makromolekuł ośrodków syntezy enzymatycznej umożliwia swoiste, kierunkowe ich modyfikacje przez zadziałanie swoistym substratem danej reakcji enzymatycznej. (W cytowanym na str. 293 przykładzie substratem tym był tryptofan).

Nasuwa się tu analogia między tymi obserwacjami a zjawiskiem opisanym przez Lindegrena i Rauta (1947, patrz str. 263). Widoczne jest, że naświetlanie promieniami pozafiołkowymi odgrywa w stosunku do *E. coli* rolę czynnika „wzbudzającego", ułatwiającego następne modyfikujące działanie substratu, gdy tymczasem u drożdży badanych przez Lindegrena tego rodzaju „wzbudzenie" było zbędne.

Zamykając podrozdział o mutilacjach i tak zwanych czynnikach mutogennych należy stwierdzić, że ten typ zmienności nie stanowi żadnej odrębnej grupy charakteryzującej się odmiennym mechanizmem.

Jest to zmienność indukowana, a bezkierunkowość jej, związana z naturą czynników wywołujących, jest tylko względna i przypadkowa.

Rozdział IX

ZMIENNOŚĆ WŁAŚCIWA, MODYFIKACYJNA CZ. IV

8. MECHANIZM ZMIENNOŚCI

He who whishes to judge how far the conditions of life directly cause each particular variation ought to reflect well on the cases immediatelly to be given[1].

Ch. Darwin 1868.

W trzech poprzedzających rozdziałach omówiliśmy zmienność modyfikacyjną dotyczącą różnych cech bakterii i krytycznie ocenialiśmy koncepcje genetyczne, usiłujące sprowadzić zmienność tego rodzaju jedynie do spontanicznych, bezkierunkowych mutacji.

Zastanówmy się obecnie zatem, jaki jest mechanizm zmian oraz w jakim stopniu są one zależne od środowiska.

Zaznaczam, że obecnie nie jest moim zamiarem rozpatrzenie przyczyn zmienności gatunków.

Jest ona wynikiem nie tylko zmienności modyfikacyjnej, osobniczej, ale również procesu segregacji i rekombinacji cech przy rozmnażaniu płciowym i selekcjonującego działania środowiska (doboru naturalnego). Sprawa ta zostanie omówiona w rozdziale XI.

Teraz ograniczymy się jedynie do przedyskutowania zjawiska powstawania i zanikania dziedzicznie ustalonych cech pod wpływem zmian funkcjonalno-morfologicznych, zachodzących w życiu osobniczym.

Jasne jest, że ani rekombinacja, ani selekcja nie są przyczyną pojawiania się nowych cech, lecz jedynie mogą modelować zespoły cech oraz warunkować ich przetrwanie.

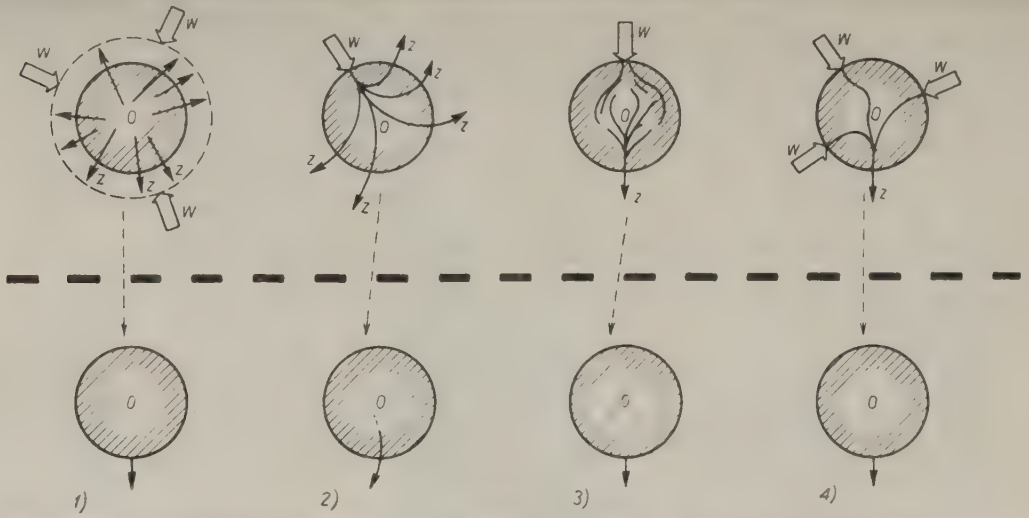
Z punktu widzenia ewolucji najistotniejsze jest zatem zagadnienie zmienności modyfikacyjnej jako jedynego źródła pojawienia się nowych własności.

Mechanizm zmienności modyfikacyjnej stał się przedmiotem licznych dyskusji naukowych, sporów trwających już kilkadziesiąt lat, przy czym wykrystalizowały się dwa zasadnicze, przeciwstawne poglądy - neodarwinistyczny (genetyczny) i neo-lamarckistowski (miczurinowski), różniące się w sposób jak najbardziej istotny w ocenie roli środowiska.

Poglądy na zależność pomiędzy zmiennością a środowiskiem można przedstawić graficznie i oczywiście schematycznie jak na rys. 17.

Rysunek 17-1) jest graficznym ujęciem poglądu ortodoksyjnych genetyków formalnych. Czynniki środowiskowe nie oddziałują zupełnie na proces powstawania zmian, który zachodzi spontanicznie. Środowisko funkcjonuje jedynie jako sito selekcyjne.

[1] „kto chce osądzić, w jakim stopniu warunki życia bezpośrednio powodują jakakolwiek zmianę, powinien zastanowić się dobrze nad przypadkami, które teraz zostaną przedstawione".



Rys. 17 Schematyczne przedstawienie poglądów na zależność zmienności od warunków zewnętrznych.

Koła zacieniowane na brzegach oznaczają organizm, białe strzałki — czynniki zewnętrzne, czarne strzałki — zmiany organizmu, gruba linia przerywana „S" — selekcjonujące działanie środowiska.

1) Pogląd zwolenników tzw. mutacji spontanicznych. Zmiany pojawiające się w organizmie są wyłącznie pochodzenia wewnętrznego i są niezależne od czynników zewnętrznych. Te ostatnie nie docierają do „substancji dziedzicznej", O tym, która z spontanicznie powstających zmian utrzyma się, decyduje sito selekcyjne.

2) Pogląd, według którego czynniki zewnętrzne modyfikują organizm, wywołując w nim wiele bezkierunkowych, przypadkowych zmian. O tym, która zmiana utrzyma się w następnych pokoleniach decyduje środowisko, działające tu jako czynnik swoiście indukujący i jako sito.

3) Środowisko działa w sposób ściśle określony, wywołując zmiany określone, przystosowawcze. Reakcją na czynnik zewnętrzny jest zmiana organizmu, pociągająca za sobą możność wykorzystania lub zobojętnienia danego czynnika. Stanowisko skrajnych lamarckistów.

4) Kilka różnych czynników środowiskowych, działając na organizm, wywołuje identyczną zmianę. O tym, czy zmieniony organizm i jego potomstwo przeżyją, decyduje selekcja środowiska.

Skutek ostateczny jest we wszystkich czterech przypadkach identyczny — przy życiu utrzymuje się forma zmieniona w sposób określony, forma przystosowana.

Rysunek 17-3) przedstawia graficznie pogląd skrajnie neolamarckistowski — czynnik środowiskowy wywołuje zawsze odpowiednią, ściśle kierunkową zmianę przystosowawczą.

Rys. 17-2) i 17-4) dają obraz poglądów umiarkowanie lamarckistowskich, uznających zarówno możliwość powstawania wielorakich, wielokierunkowych zmian pod wpływem tego samego czynnika, jak i ewentualność wywoływania danej zmiany przez wiele czynników. Środowisko zatem wpływa i modyfikująco, i selekcjonująco, przy czym oba te mechanizmy mogą być w pewnym stopniu niezależne od siebie.

Rozpatrzyliśmy kilka przykładów rozumowania mikrobiologów genetyków, uważających za wystarczające wykazanie, że jakiś dowolnie obrany czynnik środowiskowy przy pewnym jego natężeniu i w pewnych warunkach doświadczenia nie wywołuje zmiany, aby ogłosić, że pogląd neolamarckistowski jest sprzeczny z wynikami obserwacji.

Jest rzeczą oczywistą, że wykazać można w ten sposób — i to tylko częściowo — niesłuszność w badanym przypadku koncepcji skrajnie neolamarckistowskiej (rys. 17-3), natomiast dla uzasadnienia niezgodności z doświadczeniem bardziej umiarkowanych poglądów neolamarckistowskich (rys. 17-2) i 17-4)) powyższy sposób rozumowania jest najzupełniej bezużyteczny.

Na wielu konkretnych przykładach (L e w i s, R y a n, B r a u n, D e m e r e c, L u r i a i D e l b r ü c k) wykazaliśmy ponadto, że wspomnianym badaczom nie udało się wykluczyć nawet koncepcji skrajnie lamarckistowskiej oraz że w większości przypadków materiał obserwacyjny przeczy poglądowi neodarwinistycznemu.

Liczne eksperymenty, planowane specjalnie w celu wykluczenia hipotezy adaptacyjnej (neolamarckistowskiej), nie dały więc zamierzonych przez ich autorów osiągnięć i wykazały jednocześnie, że wyniki tego rodzaju doświadczeń najczęściej nie pozwalają na dokonanie oceny słuszności przeciwstawnych sobie poglądów, wielekroć przemawiając jednak przeciw spontaniczności przemian.

Dlatego też będziemy szukali rozwiązania tej zasadniczej kontrowersji na drodze analizy zapatrywań na mechanizm przemian biochemicznych, prowadzących do powstawania nowych cech.

Rozpatrywanie tego problemu rozpoczniemy od oceny przydatności koncepcji genetycznych.

U podstaw tych koncepcji leży pojęcie genu jako białkowej, samopomnażającej się cząstki, przekazywanej z pokolenia w pokolenie i warunkującej istnienie określonej cechy fenotypowej (T r o l a n d 1917, K o l c o w 1938).

Cząstka taka spontanicznie, z pewnym prawdopodobieństwem, podlegałaby zmianom, przy czym ani kierunek tych zmian, ani ich częstość nie zależałyby od czynników środowiskowych (z wyjątkiem czynników mutogennych).

Modyfikacja genu wywoływać ma nagłą, skokową zmianę określonej cechy organizmu, czyli mutację.

W tym ujęciu mutacja byłaby spontaniczna. Pierwotnie jednak zmiany skokowe uważano za wynik oddziaływania środowiska i tak definiował mutacje bakteryjne np. E i s e n b e r g (1914 b).

Wybitny współczesny genetyk-mikrobiolog Lederberg (1951) określa mutacje spontaniczne w sposób następujący: „Spontaniczne mutacje można sobie wyobrazić jako przypadkowe zjawiska chemiczne, możliwe, że jako błędy w reduplikacji (genów) w czasie wzrostu lub jako kolizje przypadkowe z cząsteczkami o dostatecznie dużej energii kinetycznej, by mogła aktywować zmianę chemiczną w genie".

Jak widać, dla zdefiniowania terminu „mutacja" pojęcia otoczenia i środowiska są Lederbergowi zbędne.

Jedynym według niego mogącym oddziaływać na gen czynnikiem jest „cząsteczka o dostatecznie dużej energii kinetycznej", a zatem czynnik mutogenny, wywołujący mutilację.

„Reduplikacja" genu miałaby przebiegać jak proces „sztancowania", opisany przez Paulinga (1948).

Pogląd powyższy jest niewątpliwie skrajny i bynajmniej nie wszyscy „genetycy" bakteryjni, nawet na Zachodzie, uznają go. Niemniej jednak wielu badaczy, których prace krytycznie naświetlono w poprzednich rozdziałach, stoi na podobnym stanowisku.

Sądzę dlatego, że celowe będzie ocenienie wartości tej koncepcji.

Zagadnienie przydatności jej jako hipotezy roboczej, mającej służyć wyjaśnieniu mechanizmu zmienności u bakterii, zostało omówione już dość szczegółowo. Okazało się przy tym, że hipoteza spontanicznych mutacji jest mniej pomocna w zrozumieniu procesu zmienności niż hipoteza adaptacji oraz że jest dość często sprzeczna z wynikami doświadczeń (patrz rozdziały VI, VII i VIII).

Sprzeczności te pociągnęły za sobą konieczność wprowadzenia szeregu dodatkowych założeń, najczęściej zupełnie dowolnych lub nawet niesprawdzalnych.

Prócz już wzmiankowanych podobnych założeń należy wymienić tu postulowaną przez Catcheside'a (1951) oscylację genu między dwoma możliwymi stanami, warunkującymi dwie różne cechy organizmu, fenotypową nierównocenność dwu genetycznie identycznych siostrzanych komórek (Newcombe wg Lederberg 1951), genoidy (L'Heritier 1948), dodatkowe swoiste plazmageny (Ephrussi wg Catcheside'a 1951, Sonneborn 1946).

Już uprzednio podkreślono, że wprowadzając odpowiednią ilość należycie dobranych założeń można „dopasować" jakąkolwiek bądź hipotezę do materiału obserwacyjnego.

Postępowanie takie może mieć wartość poznawczą jedynie wówczas, gdy poczynione założenia dają się sprawdzić eksperymentalnie.

Niestety w większości wspomnianych przypadków uzasadnieniem tych założeń jest zgodność z materiałem obserwacyjnym tej właśnie hipotezy, dla uzgodnienia której z tym samym materiałem doświadczalnym przyjęto omawiane założenia.

W tych warunkach nawet najlepsza interpretacja matematyczna hipotezy (np. Shapiro 1946) nie wniesie już nic nowego.

Trzeba zaznaczyć, że wielu genetyków zajmuje znacznie mniej skrajne stanowisko i nie odrzucając pojęcia genu przyjmuje jednak jego zależność od metabolizmu organizmu (Koller 1947) oraz uważa za nieprawdo-

podobne „samopomnażanie", przebiegające niezależnie od warunków środowiskowych (C o h e n 1947).

Ortodoksyjna koncepcja genu, szczególnie w formie przyjmowanej przez niektórych badaczy, według których syntezą każdego enzymu rządzi jeden gen, ma jeszcze jedną słabą stronę.

Ilość enzymów w komórce bakteryjnej jest bardzo duża, więc przynajmniej tak samo wiele musiałoby być odpowiednich genów. Prócz tego zgodnie z tym poglądem oporność bakterii na środki bakteriobójcze lub bakteriostatyczne zależeć by musiała od wielu genów, odrębnych nie tylko dla poszczególnych substancji antybakteryjnych, ale i dla każdego stopnia oporności.

Ilość genów, jaka musiałaby się znajdywać w komórce bakterii, byłaby zatem olbrzymia, sięgająca w najlepszym wypadku - paru lub kilkunastu tysięcy.

Zastanówmy się, czy tego rodzaju sytuacja jest prawdopodobna.

L e a i C a t c h e s i d e (1945), opierając się na teorii „trafienia" (*hit-theory*), będącej konsekwencją hipotezy spontanicznie mutujących genów, obliczyli na podstawie pomiarów efektu promieniowania jonizującego wielkość cząstek enzymów, wirusów i genów.

Z obliczeń tych wynikało, że gen (wprawdzie nie bakteryjny, ale nie ma podstaw do przypuszczania, że geny bakterii miałyby być znacznie mniejsze niż u innych organizmów) ma wymiary *ca* 2 - 7 mμ.

Geny mają być ułożone liniowo (L e d e r b e r g 1951), zajmując nieco więcej niż 1/3 całkowitej długości chromozomu.

1000 genów musiałoby zatem tworzyć nić 10 - 20 μ długości, parę tysięcy genów — kilkadziesiąt mikronów.

Trudno sobie wyobrazić, aby w ciele bakterii, którego rozmiary mogą wynosić nie więcej niż 0,25 μ, zmieścił się chromozom długości kilkunastu czy kilkudziesięciu μ.

Musielibyśmy więc przyjąć, że ilość genów u bakterii nie przewyższa liczby kilku (4—5).

Byłoby to jednak niezgodne z wyjściową koncepcją genu i jego roli w procesie zmienności.

Tak więc hipoteza, zakładająca istnienie odrębnych genów dla każdego enzymu i dla każdego stanu oporności, okazała się już raz nieprawdopodobna na podstawie analizy przebiegu procesu zmienności (patrz str. 269), obecnie zaś staje się jeszcze mniej prawdopodobna przy analizie morfologiczno-cytologicznej budowy bakterii.

Podobnie nieprawdopodobna jest spontaniczność zmian dziedzicznych u bakterii. Obok przykładów omówionych już w rozdziałach VI — VIII można dodatkowo wymienić szereg innych.

Znany nam już zwolennik spontaniczności mutacji R y a n (1947) opisuje powstawanie prototrofów (1 +) z niezdolnych do syntezy leucyny (1—) odmian *Neurospora*, zachodzące jedynie w obecności minimalnych ilości leucyny w podłożu. Opierając się na efektach krzyżowania form (1 -), (1 -) i „dzikich" prototrofów sam R y a n wyklucza ewentualność przenoszenia tej cechy przez plazmagen. R y a n, chcąc pogodzić otrzymane przez siebie wyniki z hipotezą spontanicznych mutacji, zakłada, że forma (1 +) powstaje z (1 -) na drodze „powrotnej mutacji", niezależnej

od obecności leucyny, a pojawianie się postaci (1 +) jedynie przy małym stężeniu leucyny tłumaczy „uprzywilejowaniem" jąder (1—) w obecności większych jej ilości.

Ryan stwierdził jednak, że ilość pojawiających się form (1+) sięga 13%, co wobec ogólnie znanej małej częstości mutacji (10^{-4} — 10^{-9}) pozwala przypuszczać, że opisany proces nie jest mutacją, lecz raczej adaptacją.

Ponadto Ryan (1946, 1947) znalazł u *Neurospora* zarówno formy „defektywne" zupełnie nie ustalone dziedzicznie (np. formy niezdolne do syntezy izoleucyny lub waliny), jak i niezmienne, nigdy nie przechodzące w prototrofy (np. formę nr 4545, niezdolną do syntezy lizyny).

Świadczy to o różnym ustaleniu dziedzicznym cech, co również łatwiej pogodzić z hipotezą adaptacyjną niż mutacyjną.

Trudno byłoby tłumaczyć spontanicznością zmian znane przykłady adaptacji drobnoustrojów do wzrostu w temperaturze wyższej niż normalnie dopuszczalna (Dieudonné 1894, 1895, Ciklinska 1898, Imszeniecki i Łoginowa 1944, Mefford i Campbell 1952, Miszustin 1954), tworzenie różnie ustalonych odmian asporogennych *B. anthracis* (Eisenberg 1914 c), pojawianie się do 25% osobników *E. coli* opornych na chloropochodną kwasu para-amino-benzoesowego (Strandskov 1947), powstawanie form zmienionych pod wpływem barwików (Witkin 1946), wyciągów z tkanek zwierzęcych (Nutini i Lynch 1945 a, b), surowicy (Emerson 1944), wspólnej hodowli z innymi drobnoustrojami (Konokotina 1939).

Wyraźnie przeczą hipotezie spontanicznych mutacji prace Ephrussi et al (1949, 1950), Tavlitzkiego (1949), Słonimskiego (1949), Słonimskiego i Ephrussi (1950) nad powstawaniem zmian u drożdży pod wpływem akryflawiny, Stier i Castora (1941) nad podobnym efektem cyjanku, Bautza i Marquardta (1954) nad działaniem odczynnika „Nadi" na drożdże.

Na specjalne podkreślenie zasługują liczne badania radzieckie nad wpływem na zmienność podwyższonej lub niskiej temperatury (Krasilnikow 1935, Kudriawcew i Lange 1935), wirowania (Arski 1935), formolu, chloroformu, etanolu, metanolu, KCl, NaCl (Krasilnikow 1935, Mejzel 1935, Wiełoszkin 1935, Olienow 1935, Suszkina 1935) (wszystkie pozycje wg Sacharowa 1952). Sacharow (1948), Kalina (1949), Gudkowa (1949), Kriwiski (1952) wykazali dziedziczne ustalenie cech nabytych na drodze adaptacji.

Godne zainteresowania są obserwacje Nowicka i Szilarda (1953), według których ilość „mutantów" *E. coli* opornych na fag T_5 zwiększa się w warunkach natlenienia hodowli, a specjalnie wyraźnie (do 10 razy) pod wpływem dodatku puryn (150 mg/l).

Działanie puryn można znieść dodając do podłoża nukleozydy, nie można go zatem przyrównywać do niespecyficznego efektu promieniowania i substancji radiomimetycznych.

Powołałem się na większą ilość obserwacji, by wykazać, że zjawiska mające charakter zmienności indukowanej nie są bynajmniej czymś wyjątkowym.

Istniejące w komórce bakteryjnej ośrodki syntezy białek, ośrodki korelujące reakcje enzymatyczne, nie są więc niezależne od warunków środowiskowych, a każdy czynnik modyfikujący metabolizm organizmu wpływać musi w mniejszym lub większym stopniu na strukturę i funkcję tych ośrodków.

Rozpatrzymy więc najpierw zagadnienie istnienia i natury takich ośrodków.

Najistotniejsze dla całego problemu zmienności niewątpliwie jest zagadnienie jądra bakterii.

Sprawa ta jest jeszcze nadal, po kilkudziesięciu latach badań, przedmiotem sporu, a literatura dotycząca tej kwestii liczy setki pozycji.

Obszerne przeglądy, omawiające zagadnienie jądra bakterii (Mayer 1912, Pietschmann i Rippel 1932, Lewis 1941, Knaysi 1947, 1951, Dubos 1947, Robinow 1947, Kłyszejko 1953) zwalniają mnie od obowiązku dokładniejszego jego referowania.

Zaznaczę jedynie, iż cytologów bakteryjnych, uważających podobnie jak Guilliermond (1907, 1908, 1910), że substancja chromatynowa występuje w bakteriach jedynie w postaci rozproszonej, jest obecnie stosunkowo niewielu (Schaede 1939, Imszeniecki 1940, 1945, 1948, Bondarenko-Zozulina 1949, Sołncewa 1949, Miszustin 1950).

Większość badaczy, zajmujących się tym problemem, znajdywała przy zastosowaniu różnorakich metod barwienia (hematoksylina, odczynnik Feulgena, barwiki azurowe z jednoczesnym różnicowaniem lub bez różnicowania itp.) ziarno chromatynowe występujące w komórce przynajmniej okresowo, nazwane przez Piekarskiego nukleoidem (Raymann i Kruis 1903, Vejdovsky 1904, Preiss 1904, Swellengrebel 1906, 1907, 1909, Dobell 1911, Gutstein 1925, Stoughton 1929, Badian 1930, 1933a, 1933b, 1936, Pietschmann 1931, Stille 1937, Piekarski 1937, Pieszkow 1938, 1945, 1946a, 1946b, 1948, Neumann 1941, Knaysi 1941, Robinow 1942, 1947, Lewis 1941, Biełozierski 1944, 1947, Biriuzowa 1947, Klieneberger-Nobel 1945, 1947, Bisset 1948, 1950, 1951b, Boivin 1948, Hoffmann 1951, Hewitt 1951, Kunicki-Goldfinger 1950, Kunicki-Golfinger et al 1953b, Krieg 1953).

Podobny twór dezoksyrybozonukleinowy znaleziono również u *Rickettsia* (Towarnicki 1946, Lepine i Sautter 1946, Lebiediew 1947, Ris i Fox 1949).

Obecność nukleoidu u bakterii została potwierdzona obserwacjami w mikroskopie elektronowym (Mudd 1948, Mudd i Smith 1949, 1950, Mudd et al 1950b). Zawartość kwasu dezoksyrybozonukleinowego w nukleoidzie wykazano dodatkowo, identyfikując go przy pomocy swoistego enzymu, depolimeryzującego kwas nukleinowy (Boivin 1948, Vendrely i Lipardy 1946, Tulasne i Vendrely 1947a, 1947b, 1948).

Zarzuty, iż obserwowane wewnątrzkomórkowe ziarno może być artefaktem powstającym w czasie utrwalania i barwienia preparatu, zostały po-

ważnie osłabione dzięki stwierdzeniu analogicznych ziarn (nukleoidów) w żywych komórkach badanych mikroskopowo w promieniach pozafiołkowych (Piekarski 1938, Caspersson 1947, Malmgren i Heden 1947) oraz przy zastosowaniu urządzenia kontrastu fazowego (Tulasne 1949, Stempen 1950, Pulvertaft 1950, Knöll i Zapf 1951, Knaysi 1952, Bringmann 1953).

Niektórzy badacze (Badian 1930, 1933a, b, Lindegren 1935, Chance 1938, Bisset 1951b, de Lamater 1953) dopatrują się w nukleoidzie równoważnika jednego lub paru chromozomów. Stanowisko takie jest jednak mało uzasadnione, gdyż nawet zamieszczane w pracach tych autorów mikrofotografie nie dają podstaw do tego rodzaju interpretacji.

Wydaje się jednak, że istnienie u bakterii ziarna dezoksyrybozonukleinowego, podlegającego swoistym przemianom przy podziale komórki oraz podczas tworzenia zarodników, nie ulega już dziś, wobec ogromu zebranego materiału dowodowego, wątpliwości.

Ziarno to ze względu na swą budowę chemiczną oraz przemiany, jakim podlega w czasie rozmnażania się bakterii, przypomina nieco jądro komórkowe wyższych organizmów. Jednocześnie jednak różni się od niego brakiem budowy pęcherzykowej, błony jądrowej oraz wewnętrznej struktury. Również i rola tego ziarna jest jeszcze zupełnie niejasna i dotychczas pozostaje przedmiotem spekulacji.

Dlatego też sądzę, że niesłuszne byłoby nazywanie takiego ziarna „jądrem" oraz że bardziej celowe jest przyjęcie ukutego przez Piekarskiego terminu „nukleoid". Nazwa ta sugeruje jednocześnie i podobieństwo i różnicę pomiędzy określanym nią wewnątrzkomórkowym tworem a jądrem.

Przedmiotem dalszych badań i dyskusji jest natomiast forma, budowa i rola „nukleoidu".

O tym, jak jeszcze ostrożnym trzeba być przy ocenie i interpretacji wyników obserwacji, szczególniej przeprowadzanych na materiale utrwalanym, świadczą na przykład prace Sołncewy (1949) i Johnsona i Graya (1949) nad wpływem stężenia elektrolitów na obrazy cytologiczne bakterii oraz praca Robinowa (1953), który badając cieniutkie skrawki, sporządzone z komórek bakteryjnych i zarodników, stwierdził niesłuszność swych własnych dawniejszych wyobrażeń o formie i położeniu nukleoidu zarodnika.

Prócz centralnego ziarna chromatynowego, występującego w ilości jednego lub dwóch w komórce bakteryjnej, znajdywano w jej cytoplazmie ziarnistości, traktowane przez niektórych jako mitochondria i mikrosomy.

Znajdujące się na granicy widzialności lub submikroskopowe ziarna lipidowo-rybozonukleinoproteinowe — mikrosomy — od czasu badań Claude'a i Jennera uważane są za centra enzymatycznych reakcji oddychania i syntezy białek (wg Brachet 1947).

Podobne, lecz większe, paromikronowe twory opisywali już od dawna cytologowie pod nazwą mitochondrii.

Prawdopodobnie obie te grupy tworów wewnątrzplazmatycznych są, jak podkreśla Dounce (1950), wskutek nieodpowiedniej techniki badawczej sztucznie oddzielane od siebie.

Ziarna, barwiące się zielenią janusową jak mitochondria, znalazł u bakterii już Alexeieff (1923), jednak większość mikrobiologów do ostatnich czasów wątpiła w identyczność tych ziarn i chondriozomów.

Nowe badania Mejzela i Kondratjewej (1945), przeprowadzone nad *Lactobacillus delbrücki*, a następnie Mudda et al (1951a, 1951b) i Georgiego et al (1951) nad prątkami, pałeczkami, laseczkami i ziarniakami wykazały, że bakterie również wyposażone są w rybozonukleinoproteinowe ziarna cytoplazmatyczne, zawierające enzymy oddechowe.

Stwierdzamy zatem, że bakterie, podobnie jak komórki organizmów wyższych, mają dwa rodzaje ośrodków korelujących i kierujących procesami enzymatycznymi.

Uwaga Chesina (1951) na temat mitochondrii, że „każde takie ziarno zawiera mniej więcej pełny komplet enzymów, charakterystycznych dla funkcji danej tkanki; drobiny enzymów ułożone są wewnątrz mitochondrii w zupełnie określony sposób" — odnosi się bez wątpienia w takiej samej mierze do cytoplazmatycznych ziarn u bakterii, z tym iż zamiast słów „danej tkanki" należałoby w tym wypadku wstawić określenie „danej bakterii".

Powyższe uwagi o problemie nukleoidu i mitochondrii u bakterii pozwalają wyciągnąć wniosek, że procesy enzymatyczne, ich kierunek i natężenie, są związane z pewnymi określonymi strukturami komórkowymi i metaplazmatycznymi, nazwanymi przez nas uprzednio ośrodkami korelującymi i kierującymi.

Kwestia stosunku ośrodka centralnego (nukleoidu) do ośrodków cytoplazmatycznych (mitochondrii) u bakterii jest obecnie zupełnie niejasna, a wobec prawie zupełnego braku jakiegokolwiek bądź materiału doświadczalnego nie powinna nawet być rozpatrywana.

Niewątpliwie natomiast stosunki te mają charakter pewnej chociażby niesymetrycznej współzależności. Traktowanie tych ziarn jako autonomicznych jednostek wewnątrzkomórkowych nie ma żadnego uzasadnienia i prowadziłoby do ujmowania komórki bakteryjnej nie jako pewnej całości, lecz jako zbioru prostszych jednostek. Takie ujmowanie bakterii byłoby jednak sprzeczne z wynikami obserwacji.

Dochodzimy w ten sposób do konkluzji, że zmiany charakteru i natężenia procesów enzymatycznych, zdolności do syntezy pewnych metabolitów, oporności itp. zależeć będą od zmian wyposażenia enzymatycznego i wzajemnego układu enzymów w ośrodkach komórkowych.

Ponieważ pewna ilość enzymów znajduje się jednak poza ziarnami, w hyaloplazmie a nawet w błonie cytoplazmatycznej, przeto oczywiście również i modyfikacje dotyczące tych struktur odbijać się będą w pewnym stopniu na dalszym kierunku procesów metabolicznych.

Wydaje się jednak, że dla zmienności modyfikacyjnej istotniejsze są odkształcenia ośrodków korelujących, jako decydujących w większej mierze o typie i intensywności przemiany materii i energii.

Najważniejszymi przyczynami zmienności są więc przypuszczalnie odkształcenia nukleoproteinowych cząstek cytoplazmatycznych.

Rola kwasów nukleinowych jest przy tym prawdopodobnie bardzo duża, specjalnie kwasu dezoksyrybozonukleinowego (KDRN), jak podkreśla to np. Gamaleja (1951).

Związki te biorą udział w syntezie białek, niewątpliwie również i białek enzymów (Caspersson 1947, Kiedrowski 1951, Gamaleja 1951). Jak zauważyli Greenstein i Chalkley (1944), oddziaływanie kwasów nukleinowych i białek jest wzajemne - pierwsze z nich ulegają w obecności protein pewnym odkształceniom, a same hamują aktywność niektórych enzymów.

Różnice funkcji kwasów typu dezoksyrybozowego i rybozowego nie są, szczególnie u bakterii, w pełni zbadane. O większym znaczeniu kwasu DRN świadczyć może jednak fakt bez porównania mniejszych wahań jego zawartości w bakteriach niż ilości KRN (Bielozierski 1947, Labaw, Mosley i Wyckoff 1950, Soru et al 1952). Należy jednak pamiętać o tym, że w komórkach zachodzi wzajemne przemieszczanie i przemiana obu typów kwasów nukleinowych (Painter 1944), widoczne specjalnie w czasie karyokinezy u organizmów wyższych.

Kwasy nukleinowe uchodziły na ogół za mniej labilne niż białka, co wiązano ze słabszą wymianą pomiędzy nimi a otoczeniem. Tak więc Loring (1944), stosując do badań radioaktywny fosfór, zauważył znacznie wolniejszą wymianę tego pierwiastka w kwasach nukleinowych niż w białkach i lipidach. Wynikom Loringa przeczą jednak późniejsze obserwacje, np. Jennera i Szafarza (1950), którzy wykazali pięć razy szybsze gromadzenie się radioaktywnego fosforu w kwasie rybozonukleinowym niż w plazmie.

Uwzględniając powyższe uwagi oraz fakt, iż kwasy nukleinowe są ściśle związane z wszelkimi autokalitycznie odtwarzającymi się strukturami biologicznymi (wirusy, jądro komórkowe, mitochondria), uznać trzeba ich wielką rolę w procesach metabolizmu bakteryjnego.

W związku z tym pisał Gamaleja (1951): „Kwas (dezoksyrybozonukleinowy), grający niewątpliwie główną rolę w procesie przemiany materii w komórce bakteryjnej, jest zdolny do nowoutworzenia wszystkich swych części składowych, podobnie jak odtwarza się taki sam kwas DRN jąder i pewnych wirusów".

Znaczenie kwasów nukleinowych stanie się jeszcze bardziej oczywiste, gdy weźmie się pod uwagę duże prawdopodobieństwo specyficzności tych związków, nie o wiele mniejsze niż specyficzność białek. Wskazują na to zarówno pewne obserwacje biologiczne, jak i chemiczne (Bielozierski 1947, Boivin 1947, Chargaff 1950, Wyatt 1951a, Dounce 1950, Avery, MacLeod i McCarty 1944).

Przyczyny zmienności leżeć więc będą w pierwszym rzędzie w modyfikacjach struktury nukleoproteidowych autokatalitycznie odtwarzających się cząstek.

Do indukowania zmienności powinny być zatem zdolne przede wszystkim te czynniki, które modyfikująco wpływają na nukleoproteidy.

Przypuszczenie to znajduje potwierdzenie w licznych obserwacjach, wzmiankowanych już uprzednio. Wiemy, że na zmienność bakterii wpływają bardzo silnie swoiste czynniki, na przykład te promienie pozafiołkowe, które są absorbowane najsilniej przez nukleoproteidy, sole kwasów żółciowych (rozpuszczalniki kwasów nukleinowych — Latarjet 1948), barwiki akryflawinowe, streptomycyna (strącające kwasy nukleinowe), zasady pury

nowe (biorące udział w metaboliźmie tych kwasów), trucizny radiomimetyczne itp.

Zwraca uwagę fakt, że wywoływane przez te czynniki zmiany są na ogół bezkierunkowe i nie zawsze mają charakter przystosowawczy.

Natomiast czynniki wpływające na komponentę białkową i wprost na enzymy, na przykład trucizny blokujące grupy sulfhydrylowe, różne metabolity itp., dają częściej zmiany kierunkowe przystosowawcze.

Szczególnie ważne zdają się być modyfikacje wywoływane w drobinach zaczynów.

W związku z tym należy wspomnieć o koncepcji H o r o w i t z a (1945). Badacz ten, opierając się na teoretycznych rozważaniach O p a r i n a (1941), szkicuje następująco proces ewolucji enzymatycznej. Wyobraźmy sobie, że *A, B, C* itd. są to metabolity, których wzajemna przemiana uwarunkowana jest aktywnością enzymów *I, II, III* itd.

Łańcuch przemian schematycznie da się wówczas przedstawić. $A \xrightarrow{I} B \xrightarrow{II} C \xrightarrow{III} D$ itd.

Zarówno enzym *I*, jak i *II* wykazują powinowactwo do metabolitu *B*, muszą zatem strukturalnie być do siebie zbliżone. Nawet niewielka zmiana w drobinie enzymu *I* może wówczas spowodować jego przemianę w enzym *II* i *vice versa*.

Takie niewielkie zmiany w strukturze enzymów wynikać mogą, jak sądzę, z oddziaływania metabolitów, strukturalnie zbliżonych do substratu swoistego danego enzymu.

Przemawiałyby zatem cytowane już prace L i n d e g r e n a i R a u t a (1947) oraz D a v i s a (1950) nad indukowaniem zdolności do syntezy pewnych czynników przez minimalne ilości tych właśnie czynników oraz omawiane w rozdz. VI przypadki zmienności funkcji glikolitycznych.

Podobne przypuszczenie też wypowiedział wybitny fizjolog bakteryjny, V a n N i e l (1946 – w dyskusji nad referatem R y a n a 1946).

Na podstawie rozważań zawartych w rozdziałach VI — VIII oraz powyższych uwag mogę z pewnym, jak sądzę, uzasadnieniem sformułować następujący pogląd na mechanizm zmienności modyfikacyjnej.

Zmienność modyfikacyjna jest wynikiem odkształceń, pojawiających się wprost w drobinach enzymów lub w nukleoproteidowych ośrodkach korelujących (nukleoid, mitochondria — mikrosomy).

1) Odkształcenia drobin enzymów, zasadniczo nieznaczne, są wywoływane przez zadziałanie jakimś metabolitem, którego struktura nie odbiega zbyt od budowy właściwego dla danego enzymu substratu. Odkształcenia takie prowadzą więc do zmian kierunkowych, przystosowawczych (rys. 17-4).

Przykładem tego rodzaju zmian są przypadki nabywania zdolności do syntezy lub rozkładu jakiegoś metabolitu, wywołane przez sam metabolit.

2) Odkształcenia enzymów mogą też wynikać z działania pewnych jadów enzymatycznych (KCN, inaktywacja grup SH) oraz substancji bakteriostatycznych i bakteriobójczych.

Zmiany takie są zasadniczo bezkierunkowe, lecz wskutek wtórnych modyfikacji procesów enzymatycznych mogą nabrać charakteru przystosowawczego (rys. 17-4 i 17-2).

3) Odkształcenia kwasów nukleinowych i nukleoproteidów prowadzą do modyfikacji procesów enzymatycznych wskutek modyfikacji syntetyzowanych przez cząstki nukleoproteidowe zaczynów.

Zmiany takie wynikać mogą jako wtórny efekt zakłócenia przemiany materii z zadziałania jakimś metabolitem lub też bezpośrednio pod wpływem substancji swoiście reagujących z kwasami nukleinowymi.

Jest to zmienność indukowana, najczęściej bezkierunkowa.

4) Zmiany związane z uszkodzeniem cząstek nukleoproteidowych przez swoiste czynniki, tak zwane mutogenne, mają charakter zmian bezkierunkowych i polegają w pierwszym rzędzie na utracie jakiejś funkcji czy enzymu.

Ustalenie dziedziczne zmian zależy przypuszczalnie od stopnia odkształcenia struktury cząstek nukleoproteidowych, wywoływanego bezpośrednio (pkt 3 i 4) lub pośrednio poprzez modyfikację procesów enzymatycznych i związanych z nimi procesów odtwarzania tych cząstek (pkt 1 i 2).

Zakładanie, że zmienność wynika jedynie z labilności struktur genetycznych, odkształcanych nawet przez „przypadkowe błędy w reduplikacji", przy jednoczesnym absolutnym wykluczaniu wpływu metabolizmu komórki, którego te struktury są ogniwem i wynikiem, byłoby błędem.

Traktowanie zmian dziedzicznie ustalonych jedynie jako wynik „przypadków chemicznych" lub „przypadków kolizji z drobinami o dostatecznie dużej energii kinetycznej" (L e d e r b e r g 1951) miałoby zatem tylko wtedy jakikolwiek sens, gdybyśmy przyjęli, że „przypadki" takie w rzeczywistości są przejawem działania czynników środowiskowych i przebiegu procesów metabolicznych.

Ponieważ zaś kierunek i intensywność procesów przemiany materii zależy od warunków środowiskowych, trudno więc przypuszczać, że czynniki środowiskowe nie wpływają na mechanizm zmienności.

Dziedziczność jest zależna od zdolności do autokatalitycznego odtwarzania struktur komórkowych.

Zaistnienie zmiany tych struktur uwarunkowane jest odchyleniami w rodzaju i natężeniu czynników środowiskowych, wpływających na procesy syntezy. Natomiast kierunek i charakter zmian zależą zarówno od natury zmieniającego się podłoża (enzymów, nukleoproteidowych ośrodków korelujących), jak i w pewnym, chociaż mniejszym stopniu od rodzaju czynnika indukującego.

Nie wszystkie zatem czynniki środowiskowe będą wywoływały dziedzicznie ustalone zmiany i tylko niekiedy zmiany te będą miały charakter wyraźnie kierunkowy, przystosowawczy.

Nawiązując do rozważań, zamieszczonych we wstępie do tego rozdziału oraz do ilustrującego je schematu (rys. 17 str. 296) stwierdzimy, że zmienność modyfikacyjna przebiega przypuszczalnie najczęściej w sposób przedstawiony na rys. 17 2) i 4), zaś tylko niekiedy ściśle kierunkowo (rys. 17-3).

Ujęta graficznie na rys. 17-1) zmienność „spontaniczna" jest iluzją wynikającą z tego, że nieznajomość przyczyn utożsamia się z ich brakiem. Oczywiste jest, że modyfikacje mogą powstawać i powstają również pod wpływem bodźców wewnętrznych, lecz zaistnienie tych ostatnich uzależnione jest zawsze, chociażby w sposób bardzo pośredni i trudno uchwytny dla obserwacji, od warunków środowiskowych.

Przykładem takich wewnętrznych bodźców może być wpływ zasad purynowych, wybitnie zwiększających częstość mutacji (N o w i c k i S z i l a r d 1953, patrz str. 300). W tym konkretnym przypadku intensywność bodźca jest w sposób widoczny uzależniona od metabolizmu kwasów nukleinowych, a bardziej pośrednio od metabolizmu białek.

Wykrycie innych podobnie do puryn działających czynników pozwoli na jeszcze dokładniejsze poznanie zależności istniejących między procesem zmienności a warunkami środowiskowymi.

Parę jeszcze słów należy poświęcić zagadnieniu nagłych zmian skokowych, tak zwanych mutacji. Dotychczasowe rozważania wykazały, że mutacje są zawsze indukowane, chociaż przeważnie nie mają charakteru kierunkowej, przystosowawczej zmienności.

Mutacje są przypuszczalnie wynikiem dość silnego odkształcenia ośrodków korelujących, zachodzącego pod wpływem czynnika o dużym natężeniu lub też czynnika słabszego, lecz trafiającego na nukleoproteidy uprzednio „wzbudzone" (np. wskutek naświetlania promieniami jonizującymi). Specjalnego rodzaju zmienność — mutacje uszkodzeniowe czyli mutilacje powodowane są wprost przez uszkadzające, niszczące działanie silnych bodźców na nukleoproteidy.

Kończąc rozważania nad mechanizmem zmienności podkreślę raz jeszcze, że *spontaniczność zmian u bakterii jest tylko złudzeniem wywodzącym się z utożsamiania niemożności wykrycia przyczyny z jej brakiem*.

Mamy prawo spodziewać się, że wobec niezwykle szybkiego rozwoju fizjologii bakterii i biochemii ogólnej, zaproponowany tu szkic mechanizmu zmienności zapełni się wkrótce szczegółami, dając logicznie powiązany, harmonijny obraz.

Rozdział X

ZAGADNIENIE PŁCIOWOŚCI I HYBRYDYZACJA U BAKTERII

Сама констатация спорности и нерешенности того или иного вопроса является полезной постольку, поскольку этим выделяются те разделы, которые наиболее нуждаются в дальнейшей экспериментальной разработке.

Mikrobiologia, 1954, **23** : 197.

Bakterie powszechnie uchodzą za organizmy rozmnażające się jedynie bezpłciowo. Rozmnażanie płciowe i związana z nim kombinacja cech są jednak zjawiskiem niemal powszechnym w świecie istot żywych i mającym olbrzymie znaczenie dla przebiegu zmienności.

Nic też dziwnego, że od dawna wielu badaczy starało się znaleźć u bakterii jakąś formę rozrodu płciowego.

Niektóre z tych koncepcji zawierają więcej materiału spekulacyjnego niż rzetelnie udokumentowanych wyników obserwacji. Należałoby tu wymienić wspomniane już parokrotnie hipotezy cyklogenistów, L o e h n i s a, A l m q u i s t a i É n d e r l e i n a. Opisywane przez nich formy gamet, na przykład oity i spermity E n d e r l e i n a, różne typy zygot i skomplikowany

przebieg procesu płciowego okazały się następnie artefaktami lub owocem błędnej, stronniczej interpretacji cyklogenistów.

Fantastyczne poglądy cyklogenistów poderwały zaufanie mikrobiologów do wszelkich opisów, które zdawały się świadczyć o jakiejkolwiek bądź formie procesu płciowego bakterii.

Mimo to należy jednak pamiętać, że cały szereg wybitnych mikrobiologów, znanych jako wysokiej klasy fachowcy o doskonałym opanowaniu techniki badawczej i wielkiej oględności przy wyciąganiu wniosków, obserwowało pewne zjawiska, zdające się świadczyć o pewnego rodzaju procesie płciowym u bakterii.

Pierwsza grupa takich prac dotyczy zjawisk związanych z przemianami nukleoidu i interpretowanych jako proces autogamii. Kolejne podziały nukleoidu, rozpad części ziarn i łączenie się dwóch pozostałych opisywali między innymi Schaudinn (1902), a w nowszych czasach Badian (1930, 1936), Allen, Appleby i Wolf (1937, 1939), Lindegren (1935), Beebe (1941), Klieneberger (1945), Kunicki-Goldfinger (1950).

U bakterii zarodnikujących, promieniowców i miksobakterii proces ten poprzedza wytwarzanie zarodników, gonidii lub mikrocyst. Nieco zbliżony przebieg przemian nukleoidu obserwował Bisset (1948, 1950) u pałeczek niezarodnikujących przed wytworzeniem form spoczynkowych.

Oczywiście, że podobne obserwacje, wykonane na materiale utrwalonym i barwionym, nie są w pełni przekonujące i zrozumiałe są dlatego zastrzeżenia wielu bakteriologów co do traktowania tego procesu jako autogamii.

Za interpretacją powyższą przemawiają jednak również i pewne obserwacje pośrednie. Tak więc Stanier (1942) stwierdził, że asporogenne odmiany *Actinomyces coelicolor* są o wiele bardziej stałe niż odmiany zarodnikujące, tworzące przy kiełkowaniu gonidii dużą ilość mutacji czy też wariacji. Podobnie Rautensztajn (1946) zauważył, że odmiany nie zarodnikujące *Bacillus mycoides* są bardziej ustalone i tworzą mniej form zmienionych niż szczepy zarodnikujące.

Fakty te można by było tłumaczyć zachodzącą przy tworzeniu zarodników lub gonidii segregacją cech, wynikającą z opisywanego przez innych badaczy procesu autogamicznego.

Oczywiście jednak wobec małej znajomości istotnych funkcji nukleoidu i stosunkowo nielicznych jeszcze tego rodzaju obserwacji opisywany proces autogamii może być uważany jedynie za hipotezę roboczą, wymagającą sprawdzenia w przyszłych badaniach.

Druga grupa prac obejmuje obserwacje nad procesem przypominającym zjawisko kopulacji. Już Stoughton (1929, 1932) opisywał tworzenie zygoty u *Pseudomonas malvacearum*. Te i inne podobne obserwacje mają jednak tę zasadniczą wadę, że nie opierają się na obserwacji ciągłej żywych bakterii, lecz barwionych preparatów. Nic też dziwnego, że spotkały się z niedowierzaniem i ostrą krytyką. Proces zlewania się komórek bakteryjnych opisywano jednak również na podstawie badań przeprowadzonych na żywym materiale. Braun i Elrod (1946) uważają układanie się komórek *Phytomonas tumefaciens* w rozetki za proces umożliwiający wymianę substancji jądrowej między poszczególnymi komórkami. Dienes (1946) stwierdził, że duże ciała kuliste powstają w miejscu zetknię-

cia się dwóch rozpełzających kolonii *Proteus*, należących do różnych szczepów. Wreszcie ostatnio Stempen i Hutchinson (1951) stwierdzili, że duże ciała kuliste u *Proteus* powstają w wyniku zlania się dwóch komórek, a podobny proces u *Bacillus megatherium* zaobserwował de Lamater (1953).

Twierdzenie na podstawie tych faktów, że u bakterii występuje kopulacja oraz że bakterie mogą występować w stadium haploidalnym i diploidalnym, jak zakładają np. Bisset (1950) i de Lamater, wydawałoby się nieco przedwczesne. Niemniej jednak negowanie tych faktów lub zupełne ich nieuwzględnianie byłoby również nieuzasadnione.

Trzeba przyznać, że wszystkie wzmiankowane tu opisy nie upoważniają nas jeszcze do tego, abyśmy mogli uznać istnienie procesu płciowego u bakterii za udowodnione. Nadają one jednak takiej hipotezie znamiona prawdopodobieństwa. Niedostatek materiału obserwacyjnego, szczególnie wobec olbrzymich trudności związanych z przeprowadzaniem podobnych obserwacji, nie może być przyjmowany jako dowód „bezpłciowości" bakterii.

Sądzę, że w pełni uzasadniony będzie następujący, ostrożny wniosek: Dotychczas nie udało się bezspornie wykazać obecności procesu płciowego u bakterii, natomiast szereg zasługujących na zaufanie obserwacji wskazuje na możliwość występowania u bakterii pewnego rodzaju rozrodu płciowego.

Za słusznością tego wniosku przemawiają też wyniki badań nad transformacją typów u pneumokoków i nad krzyżowaniem u *Escherichia coli*, które zostaną omówione w następnych podrozdziałach.

a) Transformacje

Pod terminem transformacji pojmuje się zjawisko przemiany własności antygenowych bakterii, wywoływane przez swoisty czynnik rozpuszczalny, wyosobniony z pokrewnego, odmiennego pod względem własności antygenowych szczepu.

Doskonały przegląd tego zagadnienia wyszedł spod pióra jednego ze współodkrywców omawianego zjawiska McCarty'ego (1946).

Punktem wyjściowym dla licznych obecnie badań była obserwacja Griffitha (1928), według której po zaszczepieniu myszce żywych, nie zjadliwych pneumokoków typu *II*, znajdujących się w fazie bezotoczkowej (R_{II}), razem z zabitymi podwyższoną temperaturą zjadliwymi pneumokokami otoczkującymi typu *III* (S_{III}) zwierzę ginie, a z jego krwi i narządów można wyosobnić żywe dwoinki, tworzące otoczki, charakterystyczne pod względem serologicznym dla grupy *III*.

Podobne zjawisko opisali Neufeld i Levinthal (1928).

Zjawisko to można byłoby tłumaczyć albo jako wynik przywrócenia do życia uprzednio zabitych dwoinek typu S_{III} lub też przemiany antygenowej z jednoczesnym odzyskaniem zdolności do syntezy substancji otoczkowej u żywych dwoinek typu R_{II}. Jak się przekonamy, prawdziwe okazało się to drugie tłumaczenie.

W trzy lata później Dawson i Sia (1931) osiągnęli taką samą przemianę *in vitro*, mieszając małe ilości żywych pneumokoków R_{II} z dużą ilością zabitych dwoinek typu S_{III}.

Wkrótce A l l o w a y (1932, 1933) udało się wyosobnić z zabitych pneumokoków typu S_{III} rozpuszczalną substancję, pod wpływem której dwoinki typu R_{II} nabywały zdolności do tworzenia substancji otoczkowej charakterystycznej dla typu *III*. W roku 1944 A v e r y, M a c L e o d i M c C a r t y wykazali, że rozpuszczalnym czynnikiem wywołującym transformację jest polimer soli sodowej kwasu dezoksyrybozonukleinowego.

Sposób postępowania, przyjęty przez tych autorów, wygląda następująco. Pneumokoki otoczkujące zabija się przez podgrzanie do temperatury 65°, trzykrotnie płucze się w płynie fizjologicznym w celu usunięcia węglowodanów otoczki i kwasu rybozonukleinowego, a następnie poddaje się ekstrakcji 0,5% roztworem dezoksycholanu sodu w płynie fizjologicznym. Po odwirowaniu osadu płyn zadaje się czterema objętościami etanolu, osad ponownie odwirowuje, rozpuszcza w wodzie, odbiałcza, ponownie wytrąca się przez dodanie 3—4 objętości etanolu, po czym usuwa się resztki substancji otoczkowej przez sześciogodzinne zadziałanie swoistym enzymem przeciwotoczkowym w temperaturze 37°.

Otrzymany w ten sposób czynnik transformujący jest trypsynooporny, absorbuje promienie pozafiołkowe o długości fali *ca* 2600 Å, nie daje reakcji na białka i lipidy, natomiast dodatnio reaguje z odczynnikiem Dieschego. Stosunek zawartości azotu do fosforu wynosi 1,69; ciężar drobinowy sięga 500 000. Na podstawie powyższych własności oraz dodatkowych wyników analiz uznano czynnik transformujący za identyczny z kwasem dezoksyrybozonukleinowym.

Transformacja nie ogranicza się tylko do typów *II* i *III*. Można na przykład otrzymać następujący szereg przemian:

$$S_{II} \xrightarrow{d.} R_{II} \xrightarrow{tr.\,3} S_{III} \xrightarrow{d.} R_{(II\ lub\ III)} \xrightarrow{tr.\,6} S_{VI} \rightarrow R_{(?)} \xrightarrow{tr.\,2} S_{II}^{*}$$

Przemiana u pneumokoka dotyczy jedynie własności antygenowych; cechy fizjologiczne, na przykład zdolność do fermentacji cukrów, pozostają niezmienione (L a n g v a d - N i e l s e n 1943).

W późniejszych badaniach (M c C a r t y, T a y l o r i A v e r y 1946, T a y l o r 1949, E p h r u s s i - T a y l o r 1950) wyróżniono w typie *III* dwie odmiany $S_{III,\,1}$ i $S_{III,\,2}$, różniące się grubością otoczek. Ekstrakty otrzymane z obu tych odmian były w pełni specyficzne, to znaczy transformowany pod ich wpływem typ *R* tworzył otoczki charakterystyczne dla tych odmian.

Podobnej transformacji jak antygen otoczkowy pneumokoków podlegać może również antygen białkowy *M* tych bakterii (A u s t r i a n i M a c L e o d 1949).

Analogiczne zjawisko przemiany własności antygenowych pod wpływem rozpuszczalnego czynnika o naturze kwasu dezoksyrybozonukleinowego opisał B o i v i n (B o i v i n et al 1945a, 1945b, B o i v i n 1947) u *Escherichia coli*, W e i l (1947) u *Shigella paradysenteriae Flexner*, A l e x a n d e r i L e i d y (1951) u *Haemophilus influenzae* a następnie (1952) u *Neisseria meningitidis*, zaś B e r r y i D e d r i c k (1936 wg A v e r y, M a c L e o d i M c C a r t y 1944) zmienili w podobny sposób wirus fibromy króliczej Shope'a w wirus zakaźnej myksomy Sanarelliego.

* d. nad strzałką oznacza degradację; tr. — oznacza, że zadziałano czynnikiem transformującym; cyfra arabska wskazuje, z którego typu wyosobniono dany czynnik.

Różnice w przebiegu transformacji u różnych drobnoustrojów dotyczą jedynie drugorzędnych szczegółów. Na przykład dla uzyskania transformacji u pneumokoka konieczna jest obecność w środowisku krwi, natomiast jest niepotrzebna przy przemianie *E. coli*. Z drugiej strony spośród wielu występujących w naturze form *R* u *E. coli* tylko jedna poddaje się działaniu czynnika transformującego.

O tym, że zjawisko transformacji jest u bakterii prawdopodobnie dość częste, świadczą liczne dawniejsze obserwacje, które dopiero teraz, po ogłoszeniu prac nad pneumokokami, można w sposób bardziej ścisły wytłumaczyć.

Tak więc już w 1935 roku Van Seeghem twierdził, że bakterie niepatogenne hodowane razem z chorobotwórczymi stają się zjadliwe. O wiele większe znaczenie ma jednak praca Burneta i Lusha (1936), w której wykazali oni, że przesącz hodowli fagoopornego gronkowca *SF* dodany do kultury szczepów wrażliwych powoduje pojawienie się u nich oporności na bakteriofaga. Podobną obserwację zawdzięczamy Berry'emu i Sandholzerowi (1938). Zastrzykiwali oni myszom żywe fagooporne szczepy *E. coli* razem z zabitymi przez ogrzewanie pałeczkami okrężnicy wrażliwymi na faga, a następnie izolowali z narządów zwierzęcia wrażliwe *E. coli* o własnościach biochemicznych takich, jakie posiadały wprowadzone do organizmu bakterie oporne. Ten sam efekt osiągali hodując żywe, oporne na fagi *E. coli* w pożywce, w której znajdowały się zabite komórki szczepów wrażliwych.

Lisbonne et al (1938) prowadzili hodowlę dwóch szczepów *E. coli* o różnych własnościach biochemicznych w podwójnym naczyniu rozdzielonym błoną kolodionową, osiągając przez to zmianę tych własności. Łączna hodowla bakterii penicylinooopornych z wrażliwymi doprowadzała do zaniku oporności na antybiotyk (George i Pandalai 1949). Hotchkiss (1951) wykazał, że ekstrakt z penicylinooopornych pneumokoków, zawierający kwas dezoksyrybozonukleinowy, wywołuje powstanie oporności na antybiotyk u szczepów uprzednio nań wrażliwych. Okazało się jednocześnie, że nabywanie oporności jest w tym przypadku procesem stopniowym, wymagającym dla osiągnięcia maksymalnego efektu wielokrotnego działania ekstraktem. Chemiczną naturę ekstraktu przebadali w tym przypadku Alexander i Leidy (1952).

Liczne opisy dotyczące podobnych zjawisk znajdujemy w radzieckiej literaturze fachowej. Krasilnikow (1941, 1945) hodował *Rhizobium* z wyki, grochu i akacjowca na przesączu hodowli bakterii brodawkowych lucerny, uzyskując w ten sposób szczepy zdolne do zakażania lucerny. Następnie ten sam autor (1945 b) opisał przypadek, w którym *Pseudomonas fluorescens*, hodowany na przesączu kultury *Rhizobium*, nabywał zdolności do zakażania roślin motylkowych i wytwarzania brodawek. Niestety, tego ostatniego eksperymentu Krasilnikowa nie udało się już następnie powtórzyć. Graczewa (1946) szczepiąc *E. coli* na pożywkę bezazotową, zawierającą zabite komórki *Salmonella bresslau*, uzyskała pałeczki okrężnicy zbliżone własnościami serologicznymi i biochemicznymi do pałeczki rzekomodurowej.

Saccharomyces globosus, nie fermentujące sacharozy i maltozy, nabywają pod wpływem autolizatu z *Saccharomyces ellipsoideus* zdolności do

fermentowania tych cukrów (K o s i k o w 1950). Pałeczka *Flexnera* hodowana z *E. coli* w podwójnym naczyniu rozdzielonym błoną filtracyjną zaczynała fermentować laktozę i sacharozę na ogół nie zmieniając własności serologicznych, a tylko wyjątkowo upodobniając się pod tym względem do pałeczki *Sonne* (K a r a j e w a i A t a n i ł a s z w i l i 1953).

Nie wykluczone, że pokrewny mechanizm mają zjawiska opisywane przez Z i l b e r a pod nazwą paraimmunitetu (patrz str. 286).

Widoczne jest zatem, że procesy transformacji, niekiedy wprawdzie tylko fragmentarycznie, były opisywane wielokrotnie.

Przedmiotem dyskusji jest obecnie mechanizm tego procesu. Przede wszystkim dotychczas nie ma absolutnej pewności, że właściwym czynnikiem transformującym jest kwas nukleinowy, a nie białko. M i r s k y (1947) podkreśla, że gdyby białko stanowiło jedynie dwuprocentowe zanieczyszczenie, nie udałoby się go wykryć w drobnych ilościach dostępnego preparatu. Zastrzeżenia te nie mają jednak tak dużej wagi, a wobec zgodnych wyników wszelkich analiz i odczynów bardzo prawdopodobne wydaje się, że czynnik jest rzeczywiście polimerem kwasu dezoksyrybozonukleinowego.

Substancja ta jest bardzo aktywna biologicznie — dla dokonania transformacji wystarcza 0,02—0,003 γ. Należy jednak pamiętać, że jest to równoważne setkom tysięcy drobin aktywnej substancji.

Część badaczy uważa czynnik transformujący za pewnego rodzaju „rozpuszczalny" gen, a sam proces za wynik „wbudowywania" do komórki gotowej jednostki genetycznej (T a y l o r 1949, E p h r u s s i - T a y l o r 1950, D o b ż a n s k i 1947 wg A v e r y, M a c L e o d i M c C a r t y 1944). Odmianą tego poglądu jest traktowanie czynnika jako plazmagenu lub elementu porównywalnego do cząstki *kappa* u *Paramaecium*.

S t a n l e y jeszcze w 1938 r. zwracał uwagę na podobieństwo pomiędzy czynnikiem transformującym a wirusem. Ostatnio C a s p e r s s o n i T h o r s s o n (1953) rozbudowali tę hipotezę, dostarczając wielu przykładów analogii między tym czynnikiem a wirusami. Według tych badaczy wirus należy właściwie uważać za swego rodzaju czynnik transformujący, powodujący pojawienie się nowej cechy o charakterze letalnym.

Wreszcie część mikrobiologów radzieckich interpretuje zjawisko transformacji jako przejaw hybrydyzacji wegetatywnej (M u r o m c e w 1949, 1953, W a s i n k o w 1951, S o m o w a 1951, K a l i n a 1953), chociaż inni, na przykład S a c h a r o w (1952), bardzo ostro krytykują to stanowisko.

Przypuszczalnie kwas dezoksyrybozonukleinowy wnikając do komórki bakteryjnej obcej, ale podatnej na takie w pewnym rozumieniu „zakażenie", łączy się w jakiś sposób z nukleoproteidowymi ośrodkami syntezy. Pod wpływem takiego połączenia kierunek procesów syntezy zostaje zmodyfikowany tak, że zmienione reakcje enzymatyczne prowadzą do odtwarzania coraz to nowych drobin kwasu nukleinowego, identycznego z czynnikiem transformującym, a jednocześnie modyfikacji ulega też aparat syntezy węglowodanów otoczki, tworząc obecnie nową dla komórki substancję otoczkową.

Proces ten rzeczywiście przypomina przypuszczalny mechanizm odtwarzania cząstek bakteriofaga w zakażonej komórce bakteryjnej. Podobieństwo może być jednak tylko powierzchowne i nie upoważnia nas jeszcze

do przeprowadzania pełnej analogii pomiędzy tymi dwoma zjawiskami. Trzeba przy tym pamiętać, że czynnik transformujący nie jest nukleoproteidem, tak jak wszystkie znane wirusy, lecz tylko kwasem nukleinowym.

Wydaje się, że *mamy w tym przypadku do czynienia ze swoistym mechanizmem krzyżowania, w którym następuje swego rodzaju „zakażenie" nową cechą.* Mechanizm ten można uważać za namiastkę, najprostszy przejaw płciowości, prowadzący jednak zasadniczo do tego samego celu co i proces płciowy — do wymiany cech.

b) Hybrydyzacja u bakterii

Tworzenie krzyżówek u bakterii zostało po raz pierwszy dokładnie i krytycznie przebadane przez Lederberga i Tatuma (1946a, 1946b), Tatuma i Lederberga (1947), Lederberga (1947). Otrzymali oni z *Escherichia coli* szczep *K-12* szereg mutantów, które utraciły zdolność do syntezy pewnych metabolitów. Łączna hodowla dwóch takich różniących się pomiędzy sobą wymaganiami odżywczymi mutantów prowadzi do pojawiania się prototrofów w ilości o wiele większej, niżby to było możliwe, gdyby źródłem ich był jedynie proces rewersji (powrotnej mutacji). Tak więc po wspólnej hodowli przez 24—48 godzin w temperaturze 37° mutanta *Y-10*, nie zdolnego do syntezy treoniny, leucyny i tiaminy, z mutantem *Y-24*, nie syntezującym biotyny, fenyloalaniny i cystyny, otrzymano obok form pośrednich, wymagających obecności w podłożu na przykład biotyny i treoniny lub treoniny i fenyloalaniny, dość liczne prototrofy rosnące na podłożu syntetycznym z glukozą.

Jak wykazali ci sami badacze, zdolność do syntezy jednego metabolitu odzyskuje normalnie 1 komórka na milion, zdolność do syntezy od razu dwóch czynników — 1 komórka na 10 miliardów. Duża ilość prototrofów nie może zatem pochodzić z rewersji.

Tatum i Lederberg zaproponowali jako wyjaśnienie hipotezę hybrydyzacji, nie wypowiadając się jednak co do mechanizmu tego procesu.

Podobne krzyżowanie dotyczyć może także takich cech, jak zdolność do fermentacji laktozy, wrażliwość lub oporność na fagi i'p. (Lederberg 1947).

Późniejsze badania Cavalliego i Heslota (1949), Fredericqa (1953), Haasa i Wyssa (1949) i samego Lederberga (1950) potwierdziły pierwsze obserwacje.

Dotychczas zjawisko to stwierdzono tylko u *E. coli* i to jedynie u szczepu *K-12* i wywodzących się z niego mutantów.

Proces „rekombinacji" opisywano też u bakteriofagów (Hershey 1946, Hershey i Davidson 1951, Doermann i Hill 1953, Murphy 1953, Visconti i Delbrück 1953) oraz u wirusa grypy (Burnet 1951, Hirst i Gottlieb 1953). Nie wiadomo jednak, czy zjawisko to nie ma więcej wspólnego z transformacją niż z omawianym tu procesem. Podobnie opisany przez Stockera, Zindera i Lederberga (1953) przypadek powstawania urzęsionej formy *Salmonella* z „krzyżowania" dwóch form bezrzęskowych mógłby może być zaliczony raczej do zjawisk transformacji, gdyż przemiana zachodziła tu również pod wpływem bezbakteryjnego lizatu.

W serii prac (Haas, Wyss i Stone 1948, Haas i Wyss 1949, Clark, Haas, Stone i Wyss 1950) wykazano, że ilość rekombinantów zwiększa się znacznie, o ile uprzednio naświetlić bakterie lub podłoże odżywcze promieniami pozafiołkowymi lub roentgenowskimi. Jednocześnie w hodowli pojawia się dość dużo postaci nitkowatych, których powstawanie badacze ci łączą z procesem krzyżowania. Stwierdzono także, że w obecności węgla aktywowanego ilość rekombinantów ulega zmniejszeniu, zwiększa się natomiast po usunięciu z podłoża jonów wapnia, obniżających, jak wiadomo, przepuszczalność błony komórkowej.

Dwie ostatnie obserwacje zdawałyby się świadczyć, że krzyżowanie odbywa się za pośrednictwem jakiegoś czynnika rozpuszczalnego. Jednakże dotychczas nikomu nie udało się osiągnąć wyniku krzyżowania za pomocą przesączów hodowli lub lizatów.

Krzyżowanie nie zachodzi też, gdy dwa szczepy oddzielone są od siebie filtrem bakteriologicznym, nieprzepuszczalnym dla komórek (Davis 1950a).

Wydaje się więc nie wykluczone, że hybrydyzacja jest wynikiem kopulacji, zlania się dwóch komórek, który to proces, jak widzieliśmy w pierwszym podrozdziale, był również niekiedy opisywany nawet na podstawie obserwacji żywego materiału.

Współodkrywca zjawiska hybrydyzacji Lederberg oraz szereg innych badaczy, na przykład Catcheside (1951), zakładają zgodnie ze swymi poglądami na mechanizm zmienności i dziedziczności, że podlegające krzyżowaniu cechy zależą od istnienia oddzielnych genów, przy czym sam Lederberg dopuszcza możliwość istnienia bardzo dużej ich ilości. Cecha fagooporności zależeć by miała na przykład od większej ilości różnych genów. Geny według Lederberga są ułożone linijnie. Na podstawie kojarzenia się poszczególnych cech Lederberg usiłuje nawet sporządzić „mapę" chromozomu *E. coli*.

Pewne odchylenia, pojawiające się w czasie krzyżowania i niezgodne z przewidywanymi na podstawie przyjętej hipotezy wynikami, tłumaczy się zmianami w chromozomach w czasie ich krzyżowania (Rothfels 1952), lub też tym, że powstający po kopulacji diplont nie dzieli się od razu na osobniki haploidalne, lecz rozmnaża się niekiedy jako taki (Lederberg 1949, Zelle i Lederberg 1951).

Rozpatrzmy czy hipoteza ta łącznie z dodatkowymi założeniami znajduje dostateczne uzasadnienie w faktach.

Co do istnienia wielu odrębnych dla każdej cechy genów wypowiedziałem się już w rozdziale IX (str. 299), wykazując że w komórce bakteryjnej nie ma po prostu miejsca na tak dużą ilość liniowo ułożonych cząstek o rozmiarach, przypisywanych przez samych genetyków genom. O ile w komórce bakterii nawet znajduje się chromozom, na co dotychczas żadnego bezpośredniego i przekonującego dowodu nie mamy, chromozom taki mógłby się składać tylko z bardzo ograniczonej ilości genów.

Przeciw chromozomowej naturze nukleoidu bakteryjnego przemawiają też pośrednio wyniki obserwacji nad działaniem kolchicyny na bakterie. Jak wiadomo, kolchicyna hamuje podziały chromozomów i powoduje zwięk-

szenie ich lepkości. Musiałyby zatem pod jej wpływem powstawać u bakterii pewne zmiany segregacyjne. W rzeczywistości jednak zmian takich nie obserwowano, a działanie kolchicyny na bakterie jest zupełnie niespecyficzne (Walker i Youmans 1940, Štercl 1948, Cafiero i Zambruno 1952).

Podstawowe założenia hipotezy Lederberga, istnienie odrębnych genów dla każdej niemal cechy i ich linijne ułożenie, nie znajdują zatem potwierdzenia w materiale doświadczalnym.

Skojarzenie cech, występujące nawet z pewną stałością, można by było tłumaczyć równie dobrze korzystając z języka biochemików zamiast z narzecza genetyków.

Na przykład zmianie cechy *a* w *a'* może towarzyszyć zmiana cechy *b* w *b'* nie dlatego, że zmiany te powodowane są przez modyfikacje struktur przestrzennie blisko siebie położonych, lecz dlatego że modyfikacja struktury wyjściowej powoduje odchylenie w przebiegu łańcuchowego procesu enzymatycznego, prowadzącego do syntezy struktury, ujawniające się nam jako wystąpienie cechy *b'*.

Istotna będzie zatem bliskość biochemiczna, a nie bliskość mechaniczna, przestrzenna, którą Lederberg uważa za decydującą.

Krytyka poglądów cudzych nie jest jeszcze rozwiązaniem kwestii, ale nie było moim zamiarem szukać obecnie takiego rozwiązania. Chodziło mi tylko o wskazanie możliwości szukania innych dróg dla tłumaczenia tego zjawiska.

Niezależnie jednak od tego problemu fakt wykrycia u bakterii zjawiska hybrydyzacji ma olbrzymie znaczenie i nie wykluczone, że stworzy konieczność rewizji naszych dotychczasowych zapatrywań na tę grupę organizmów żywych, a może i na mechanizm samego procesu płciowego.

c) Rozważania końcowe

Rozdziału tego nie można zamknąć ostateczną konkluzją. Nie potrafimy jeszcze dać w pełni zdecydowanej odpowiedzi na pytanie, czy i w jakiej formie występuje u bakterii rozród płciowy.

Stwierdzamy jednak, że *wymiana cech może zachodzić za pośrednictwem rozpuszczalnego czynnika* o charakterze kwasu nukleinowego. Proces ten można traktować jako pewnego rodzaju formę hybrydyzacji bez kopulacji.

Nie ulega również wątpliwości fakt krzyżowania się bakterii bez udziału czynnika rozpuszczalnego. Zjawisko to dotychczas zostało zbadane tylko u jednego gatunku, a ściślej nawet u jednego szczepu (*E. coli K-12*). Nie ma jednak żadnych podstaw do wątpienia, że zdarza się ono o wiele częściej i u wielu innych gatunków bakterii.

Liczne obserwacje wskazują wreszcie na prawdopodobieństwo istnienia u bakterii procesu kopulacji oraz w innych przypadkach procesu autogamii, segregacji cech bez ich wymiany.

Fragmentaryczność obserwacji a niekiedy niepowtarzalność tymczasowa wyników osiąganych przez niektórych badaczy nie powinna być traktowana jako okoliczność przemawiająca przeciw istnieniu płciowości u bakterii.

Badania nad innymi grupami organizmów żywych dostarczają nam przecież dowodów na to, że powstanie z komórek wegetatywnych gamet, ich następne dojrzewanie i sam proces kopulacji uwarunkowane są szeregiem czynników, dopiero w niewielu wypadkach poznanych.

U *Chlamydomonas* czynnikami tymi są określone i zbadane już substancje chemiczne, jak protokrocyna, pirokrocyna, krocyna, dwumetylokrocyna, safranol itd. (M o e w u s wg H a w k e r 1951). Jak wykazały badania S a g e r a i G r a n i c k a (1953), tworzenie gamet z komórek wegetatywnych u tego samego rodzaju glonu uzależnione jest jednocześnie od zmniejszenia ilości przyswajalnego azotu w podłożu.

K r a s i l n i k o w (1945) wykazał, że kopulacja gamet u niektórych grzybów jest stymulowana przez ciepłostałą, rozpuszczalną w wodzie i nierozpuszczalną w rozpuszczalnikach tłuszczowych substancję wytwarzaną przez liczne bakterie.

Różnorodność procesów metabolicznych i typów metabolizmu jest u bakterii prawdopodobnie większa niż w jakiejkolwiek bądź innej grupie istot żywych. Przypuszczalnie więc i różnorodność czynników, które warunkować by mogły tworzenie gamet i kopulację, jest o wiele większa. Tłumaczyłoby to w pewnym stopniu trudności, na jakie napotykają badacze, których przedmiotem zainteresowania jest proces płciowy u bakterii. W nieznajomości wspomnianych czynników można by było też szukać przyczyn tymczasowej niepowtarzalności wielu eksperymentów i obserwacji.

Dyskutując o problemie płciowości u bakterii należy pamiętać, że podobny problem istnieje również w mykologii. Wiele form czy też gatunków *Fungi imperfecti*, u których nie znany jest rozród płciowy, okazało się aseksualnymi postaciami gatunków grzybów właściwych. U grzybów heterotalicznych również obserwujemy proces zanikania rozrodu płciowego, uwarunkowany zmiennością szczepów pierwotnie zdolnych do kopulacji z sobą. Ponadto H a n s e n (1938) zaobserwował u grzybów niedoskonałych charakterystyczny proces imitujący proces seksualny, a nazwany przez niego „zjawiskiem dwoistości" (*dual phenomenon*). Proces ten ma swą przyczynę w dwoistości jąder wielojądrowej grzybni. Zależnie od przewagi ilościowej jednego z typów jąder przeważa określony kompleks cech. Przy zmianie stosunku ilościowego pomiędzy jądrami obu typów zmieniają się też cechy grzyba. Takie formy mieszane, zawierające dwa rodzaje jąder, powstają przez łączenie się za pomocą anastomoz grzybni dwóch form, posiadających każda tylko jeden typ jąder (wszystkie uwagi dotyczące grzybów cytowane wg R a m s b o t t o m a 1949).

Nie wykluczone, że takie lub podobne procesy mogą przebiegać także i u bakterii.

Dyskusja nad płciowością nie została jeszcze zamknięta ani też nie doprowadziła do sprecyzowania jakiejś ogólniejszej teorii.

Dyskusja ta jak i obecnie już osiągnięte wyniki badań otwierają jednak przed mikrobiologami olbrzymie możliwości pracy ekperymentalnej, tworzenia hipotez i szukania nowych dróg poznania tej mało zbadanej dziedziny.

Rozdział XI

PROCESY GATUNKOTWÓRCZE U BAKTERII

„...niniejsze dzieło nie zawiera żadnych nowych odkryć...; lecz ponieważ wnioski, które z pobieżnego szkicu wyprowadziłem, wydały mi się interesującemi, sądziłem przeto, że i innych zająć niemi potrafię".

K. Darwin, *O pochodzeniu człowieka*, str. 3.

Proces powstawania nowych odmian i form ma w naturze trojsty mechanizm. Trzy zjawiska odgrywają tu zasadniczą rolę — zmienność modyfikacyjna, segregacja i rekombinacja cech w procesie płciowym oraz selekcja. Udział tych trzech mechanizmów w powstawaniu nowych form będzie różny, zależnie od charakteru zmieniającego się organizmu i od warunków środowiskowych.

Rozważania zamieszczone w poprzednich rozdziałach upoważniają nas do twierdzenia, że zmienność modyfikacyjna jest wynikiem oddziaływania środowiska na organizm. Znaczenie zmienności tego rodzaju jest u bakterii bez wątpienia o wiele większe niż w innych grupach roślin lub zwierząt, gdzie zależność od środowiska jest bardziej pośrednia i gdzie przekazywanie cech odbywa się za pośrednictwem specjalnie chronionych i izolowanych komórek — gamet.

Z tego też powodu zagadnieniu zmienności modyfikacyjnej poświęciłem najwięcej miejsca w referacie.

Rola hybrydyzacji jest natomiast prawdopodobnie w procesach gatunkotwórczych u bakterii znikomo mała w porównaniu ze znaczeniem, jakie ma ten mechanizm u organizmów wyższych. Wobec olbrzymiego zasięgu zmian modyfikacyjnych i wielkiej ich częstości u bakterii krzyżowanie, rekombinacja cech zdaje się być tylko mechanizmem wspomagającym.

Wiąże się to nie tylko z przypuszczalnie zaczątkowym charakterem niedoskonałego i prymitywnego jeszcze procesu płciowego rozrodu u bakterii, ale również ze swoistym stosunkiem bakterii do środowiska, dużą intensywnością ich metabolizmu i niezwykłym tempem rozmnażania.

Kwestię selekcji pominęliśmy niemal zupełnie w naszych rozważaniach. Nie oznacza to jednak, by selekcja nie była również i u bakterii niesłychanie ważnym czynnikiem gatunkotwórczym. U bakterii selekcjonujące działanie warunków środowiskowych zwykle łączy się ściśle z modyfikującym oddziaływaniem tych samych warunków. Selekcja jest oczywiście tym mechanizmem, który decyduje o przetrwaniu danej formy. Wobec tego jednak, że warunki środowiskowe zmieniają się w mikroniszach ekologicznych, w których żyją bakterie, z kalejdoskopową wprost szybkością, selekcjonujące działanie środowiska musi być znacznie mniej istotne niż jego wpływ modyfikujący.

Dochodzimy zatem do wniosku, że w przebiegu ewolucji bakterii najważniejszą rolę odegrać musiała i odgrywa nadal zmienność modyfikacyjna, selekcja odgrywa rolę drugorzędną, zaś hybrydyzacja zupełnie podrzędną.

Pod tym względem stosunki u bakterii przedstawiają się więc niemal odwrotnie niż u organizmów wyższych, szczególnie zwierzęcych.

O tej osobliwości procesów gatunkotwórczych u bakterii należy pamiętać przy rozpatrywaniu ewolucji tej grupy.

Rys. 18 Schemat ewolucji bakterii wg Bisseta (1950). Objaśnienia w tekście.

Na rysunku 18 przedstawione jest hipotetyczne drzewo rozwojowe bakterii, tak jak je wyobraża sobie Bisset (1950). Zamiast tego schematu można było oczywiście zamieścić jakiś inny, na przykład proponowany przez Van Niela (1946) czy Krasilnikowa (1949), różniący się od

podanego w pewnych szczegółach. Byłoby to jednak, jak sądzę, zbyteczne, gdyż wszystkie tego rodzaju schematy filogenetyczne bakterii są w tej chwili dość dowolne i słabo udokumentowane.

Jeśli wyróżnilibyśmy za Timoféeff-Ressovskym (1949) makro- i mikro-ewolucję, wówczas okazałoby się, że o makroewolucji u bakterii możemy powiedzieć o wiele mniej niż o analogicznym procesie w królestwie roślin lub zwierząt. Jest to wynikiem przede wszystkim braku wszelkich danych historycznych, jakichkolwiek bądź wiadomości o przebiegu rozwoju bakterii w epokach minionych.

Natomiast badanie przebiegu mikroewolucji jest w bakteriologii niewątpliwie łatwiejsze i może być bardziej owocne niż podobne dociekania w stosunku do innych istot żywych.

Z powyższych względów nie przywiązuję specjalnej wagi do wyglądu drzewa rozwojowego bakterii. Uważam natomiast za bardzo istotne i celowe badania nad mechanizmem zmienności modyfikacyjnej, leżącej u podstaw mikroewolucji bakterii.

Jak wynika z poprzednich rozdziałów, przebieg pewnych etapów mikroewolucji i mechanizm tego procesu zostały już w niektórych przypadkach dość dokładnie zbadane. Wielokrotnie doprowadziło to do uzyskania przez nas możliwości kierowania przebiegiem poszczególnych etapów.

Pominęliśmy w naszych rozważaniach zagadnienie roli walki międzygatunkowej i wewnątrzgatunkowej w ewolucji bakterii. Jest to zasadniczo część szerszego problemu, który określiliśmy jako udział selekcji w procesach gatunkotwórczych. Nie ulega przy tym wątpliwości, że udział konkurencji między- i wewnątrzgatunkowej w procesie selekcji musi być dość znaczny. Niestety, obserwacje dotyczące tego zagadnienia są bardzo skąpe i niepełne.

Wydaje się w każdym bądź razie, że konkurencja wewnątrzgatunkowa u bakterii ma stosunkowo duże znaczenie, jak świadczą o tym na przykład badania Pereca (1953) nad mikroflorą jelitową lub Gratii i Fredericqa (1946, 1947) nad wytwarzaniem kolicyny przez jelitowe szczepy *E. coli*.

Zaznajomienie się z mechanizmem zmienności u bakterii daje nam jeszcze jeden poważny atut. Jest nim możliwość ustosunkowania się w sposób krytyczny do pewnych koncepcji dotyczących ewolucji procesów biochemicznych, enzymatycznych.

Niektórzy badacze (np. Knight 1936, Lwoff 1943, Snell 1951), przyjmując niekiedy za punkt wyjścia hipotezę Oparina (1941) o pierwotności organizmów cudzożywnych, stworzyli teorię, według której ewolucja miałaby polegać na stopniowej utracie pewnych enzymów przy jednoczesnym doskonalszym zharmonizowaniu czynności poszczególnych pozostałych enzymów.

W rozdziale IX wskazano już, że z hipotezy Oparina wynika, jak zresztą zauważył to Horowitz, zgoła co innego, mianowicie możliwość przekształcania, ewolucji enzymów.

Obserwacje nad zmiennością bakterii dostarczają licznych przykładów takiego przekształcania zaczynów pod wpływem różnorodnych czynników. Ewolucja biochemiczna bakterii polega więc nie na utracie zaczynów, lecz na zyskiwaniu jednych, czemu częstokroć oczywiście towarzyszy utrata

innych. Komplet enzymów danej bakterii jest zatem bilansem zysków i strat, przy czym oba te procesy są odwracalne i mogą się przypuszczalnie wielekroć powtarzać.

Niezależnie od tego, jak przebiegał w rzeczywistości rozwój bakterii, nie ulega wątpliwości, że wywodzą się one od jakichś organizmów prostszych. O ile nie będziemy brali pod uwagę pewnych dość fantastycznych hipotez, jak na przykład hipotezy Mereżkowskiego (1910) o dwóch rodzajach pierwotnej protoplazmy — plazmy mykoidalnej i ameboidalnej, to okaże się, że rozwiązania tego problemu szukać należy właśnie w badaniach nad zmiennością bakterii.

W rozdziale V przy omawianiu heteromorfozy regeneracyjno-inwolucyjnej wspominaliśmy o postaciach L i ich podobieństwie do drobnoustrojów pleuropneumoniopodobnych. Wydaje się dość prawdopodobne, że stadium form L, spotykane w ontogenezie bakterii, jest odbiciem etapu rozwoju filogenetycznego. Za przodków bakterii moglibyśmy wówczas uważać ziarenkowate, bezkomórkowe organizmy saprofityczne, podobne do opisanych przez Seiffferta oraz Laidlowa i Elforda.

*

Znaczenie badań nad zmiennością bakterii jest, jak się okazało, olbrzymie nie tylko dla samej bakteriologii, ale dla biologii w ogóle. Bakterie są bodaj najodpowiedniejszym obiektem do badań nad zmiennością modyfikacyjną. Zrozumiałe, że próba mechanicznego stosowania wyników osiągniętych w eksperymentach prowadzonych przy użyciu bakterii do organizmów wyższych byłaby dużym błędem.

Wykorzystanie jednak tych zdobyczy może przyczynić się do postępu badań nad zmiennością modyfikacyjną u organizmów wyższych, u których proces ten maskowany jest przez występujące na pierwszy plan mechanizmy rekombinacji i selekcji.

Badania nad zmiennością bakterii pozwalają ponadto krytycznie ocenić wartość i przydatność terminologii i koncepcji genetycznych dla wyjaśnienia mechanizmu zmienności modyfikacyjnej.

Wreszcie badania te mogą mieć duże znaczenie praktyczne dla epidemiologii, diagnostyki chorób infekcyjnych, chemoterapii, seroterapii, wakcynoterapii, dla przemysłu fermentacyjnego, konserwacji środków spożywczych, dla pewnych działów mikrobiologii rolnej.

LITERATURA

1. Abd-el Malik Y. i Gibson T., 1948, *J. Dairy Res.*, **15** : 249.
2. Adams M. H., 1949, *J. Immunol.*, **62** : 505.
3. Alexander H. E. i Leidy G., 1951, *J. exp. Med.*, **93** : 345.
4. Alexander H. E. i Leidy G., 1952, *J. exp. Med.*, **97** : 17.
5. Alexieieff A., 1923, *C. r. Soc. Biol.*, **89** : 728.
6. Allen E. i Allen O., 1950, *Bact. Rev.*, **14** : 273.
7. Allen L. A., Appleby J. C. i Wolf J., 1937, *Nature*, **139** : 412.
8. Allen L. A., Appleby J. C. i Wolf J., 1939, *Zentr. Bakter.*, II, **100** : 3.
9. Alloway N. J., 1932, *J. exp. Med.*, **55** : 91.
10. Alloway N. J., 1933, *J. exp. Med.*, **57** : 265.
11. Almquist E., 1925, Biologische Forschungen über die Bakterien, Stockholm

12. Anderson H. F., 1949, *J. Bact.*, **56** : 403.
13. Ark P., 1946, *J. Bact.*, **51** : 699.
14. Ark P., 1951, *J. Bact.*, **61** : 293.
15. Arkwright J. A., 1921, *J. Path. Bact.*, **24** : 36.
16. Arkwright J. A., 1924, *Brit. J. exp. Path.*, **5** : 23.
17. Atwood K. C., Schneider L. K. i Ryan F. J., 1951, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **37** : 146.
18. Austrian R. i Mac Leod C. M., 1949, *J. exp. Med.*, **89** : 451.
19. Avery O. T., Mac Leod C. M. i Mc Carty M., 1944, *J. exp. Med.*, **79** : 137.
20. Badian J., 1930, *Acta Soc. Botan. Polon.*, **7** : 55.
21. Badian J., 1931, *Acta Soc. Botan. Polon.*, **8** : 105.
22. Badian J., 1933a, *Acta Soc. Botan. Polon.*, **10** : 361.
23. Badian J., 1933 b, *Arch. Mikrobiol.*, **4** : 409.
24. Badian J., 1935, *Acta Soc. Botan. Polon.*, **12** : 69.
25. Badian J., 1936, *Acta Soc. Botan. Polon.*, **13** : 105.
26. Baerthlein K., 1912, *Zentr. Bakter.*, I, *Orig.*, **66** : 21.
27. Baerthlein K., 1918, *Zentr. Bakter.*, I, *Orig.*, **81** : 369.
28. Baerthlein K., 1923, w Kraus-Ullenhut: Handbuch der Mikrobiologischen Technik. B. II, Urban-Schwarzenberg, Berlin, s. 1195.
29. Barer G. R., 1951, *J. gen. Microbiol.*, **5** : 1.
30. Barron Guzman E. S., 1953, *Texas Rep. Biol. Med.*, **11** : 653.
31. Bary de A., 1887, Vorlesungen über Bakterien, Engelmann, Leipzig.
32. Barrett J. T., Larson A. D. i Kallio R. E., 1953, *J. Bact.*, **65** : 187.
33. Bautz E. i Marquardt H., 1954, *Naturwissenschaften*, **41** : 121.
34. Becquerel P., 1910, *C. r. Acad. Sci.*, **151** : 86.
35. Beebe J. M., 1941, *J. Bact.*, **42** : 193.
36. Beijerinck M. W., 1912, *Folia Microbiologica, Delft.*, **1** : 1.
37. Bellamy W. D. i Klimek J. W., 1948, *J. Bact.*, **55** : 147, 153.
38. Benecke W., 1909, *Zeitschr. Abstamm. Vererbungsl.*, **2** : 215.
39. Benigno P. i Berti T., 1953, *Acad. Naz. Linzei* (Roma), **14** : 687.
40. Berry G. P. i Sandholzer L. A., 1938, *J. Bact.*, **35** : 49.
41. Bessonowa A. A. i Lenska G. P. 1929, *Wiestn. Mikrobiol. Epidemiol Paraziтol.*, **8** : 23.
42. Bessonowa A. A., Lenska G. P., Mołodcowa P. F. i Masołowa O. M., 1936, *Wiestn. Mikrobiol. Epidemiol. Paraziтol.*, **15**, z. 2.
43. Biełozierski A. N., 1944, *Mikrobiologia*, **13** : 23.
44. Biełozierski A. N., 1947. *Cold. Spring. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **12** : 1.
45. Bieruława C. J., 1951, Izmienczywost' mikrobow i immunitet. *Gosmied-Izd.*, Tbilisi.
46. Biriuzowa W., 1947, *Mikrobiologia*, **16** : 285.
47. Bisset K. A., 1948 a, *J. Hyg.*, **46** : 173.
48. Bisset K. A., 1948 b, *J. gen. Microbiol.*, **2** : 83.
49. Bisset K. A., 1950, The cytology and life-history of bacteria, Livingstone, Edinburgh.
50. Bisset K. A., 1951, *J. gen. Microbiol.*, **5** : 150.
51. Bisset K. A., 1951 b, *Ann. Rev. Microbiol.*, **5** : 1.
52. Bisset K. A., 1952, *J. gen. Microbiol.*, **7** : 233.
53. Bohdanowiczówna Z. i Ławrynowicz A., 1932, *Med. Dośw. Spol.*, 15 : 48.
54. Bohdanowiczówna Z. i Ławrynowicz A., 1933, *Med Dośw. Spol.*, 17 : 226.

55. Boivin A., Delanay A., Vendrely R. i Lehoult Y., 1945, *C. r. Soc. Biol.*, **139**,: 1046.
56. Boivin A., Vendrely R. i Lehoult Y., 1945, *C. r. Soc. Biol.*, **139** : 1047.
57. Boivin A., 1947, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **12** : 7.
58. Boivin A., 1948, *C. r. Soc. Biol.*, **142** : 1258.
59. Bondarenko-Zozulina M. I., 1949, *Mikrobiologia*, **18** : 346.
60. Bondi A. i Dietz C. C., 1944, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **56** : 135.
61. Bondi A., 1945, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **60** : 55.
62. Benecke W., 1912, Bau und Leben der Bakterien., B. G. Theubner Verl., Leipzig
63. Bordet J. i Renoux E., 1928, *Ann. Inst. Pasteur*, **42** : 1283.
64. Borman E. K., Stuart C. A. i Wheeler K. M., 1944, *J. Bact.*, **48** : 351.
65. Brachet J., 1947, *Symp. Soc. Exp. Biol. (Cambr.)*, : 207.
66. Braun A. C. i Elrod R. P., 1946, *J. Bact.*, **52** : 695.
67. Braun W., 1946, *J. Bact.*, **51** : 327.
68. Braun W., 1947 a, *J. Bact.*, **53** : 250.
69. Braun W., 1947 b, *Bact. Rev.*, **11** : 75.
70. Braun W., 1949, *J. Bact.*, **58** : 291.
71. Breed R. S., Murray E. G. D. i Hitchens A. P., 1944, *Bact. Rev.*, **8** : 255.
72. Brieger E. M. i Glauert A. M., 1952, *J. gen. Microbiol.*, **7** : 287.
73. Bringmann G., 1953, *Zentr. Bakter.*, II, **107** : 40.
74. Broadfield J. R. G. i Errera M., 1949, *Nature*, **164** : 533.
75. Brook R. F. i Hucker G. J., 1944, *J. Bact.*, **48** : 295.
76. Brown M. i Heffron H. M., 1929, *Science*, **69** : 198.
77. Brueckner H. J. i Sherman J. M., 1932, *J. inf. Dis.*, **51** : 1.
78. Bruner D. W. i Edwards P. R., 1941, *J. Bact.*, **42** : 467.
79. Bruner D. W. i Edwards P. R., 1948, *J. Bact.*, **55** : 449.
80. Bruner D. W., 1949, *J. Bact.*, **57** : 387.
81. Bruner D. W., 1952, *J. Bact.*, **64** : 138.
82. Bruner D. W., 1953, *J. Bact.*, **65** : 222.
83. Bryson V. i Demerec M., 1950, *Ann. N. York. Acad .Sci.*, **53** : 283.
84. Bryson V., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol. Roma*, **1** : 329.
85. Bucher K. i Doerr R., 1950,: Die Gewöhnung an nichtantigene Gifte., w Doerr's — Die Immunitätsforschung. B. V. Springer, Wien.
86. Bunting M. J., 1940, *J. Bact.*, **40** : 57, 69.
87. Bunting M. J., 1942, *J. Bact.*, **43** : 493.
88. Bunting M. J., 1946, *Cold. Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **11** : 25.
89. Burk A., 1908, *Arch. Hyg.*, **65** : 235.
90. Burnet F. M. i Lush D., 1936, *Australian J. Exp. Biol. Med. Sci.*, **14** : 27.
91. Burnet F. M., 1951, *Bull. John Hopkins Hosp.*, **88** : 119.
92. Burri R., 1910, *Zentr. Bakter.*, II, **28** : 321.
93. Burri R. i Düggeli M., 1909, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **49** : 145.
94. Byatt P. H., Jann G. H. i Sall A. J., 1948, *J. Bact.*, **55** : 787.
95. Calmette A., Valtis J. i Lacomme M., 1928, *Ann. Inst. Pasteur*, **42** : 1149
96. Calmette A., 1933, *La Presse Médic.*, **77** : 1481.
97. Campbell J. R. i Stokes F. N., 1951, *J. Biol. Chem.*, **190** : 853.
98. Campbell L. i Williams O. B., 1953, *J. Bact.*, **65** : 141.
99. Carpenter P. L. i Stuart C. A., 1950, *J. Immunol.*, **64** : 237.
100. Carrére L. i Roux J., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol. Roma*. **1** : 44.

101. Caspersson T., 1947, *Symp. Soc. Exp. Biol. (Cambridge)* : 127.
102. Caspersson T. i Thorsson K. G., 1953, *Klin. Wchschr.*, **31** : 205.
103. Catcheside D. G., 1951, The genetics of Micro-Organisms. Pitman, London.
104. Cavalla G. i Falcone G., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol. Roma*, **1** : 46.
105. Cavalli L. L. i Heslot H., 1949, *Nature*, **167** : 1057.
106. Cavalli L. L. i Maccacaro G. A., 1950, *Nature*, **166** : 991.
107. Chance H. L., 1938, *J. Bact.*, **35** : 347.
108. Chargaff E., 1950, *Experientia*, **6** : 201.
109. Chesin R. W., 1951, *Usp. Sowr. Biol.*, **31** : 57.
110. Ciklinska P. W., 1898, *Rusk. Arch. Patol.*, **5** : 678.
111. Ciuca M., Mesrobeanu L., Russ S. i Mitrica N., 1949, *Beletin Stiintific.* Bucharest, **1**.
112. Ciuca M., Soru E., Paduraru M., Badenski A. i Wisner B., 1953, *Stud Cercet. Microbiol. Inframicrobiol. Parasitol. Acad. RPR*, **4** : 159.
113. Clark F. E. i Carr P. H., 1951, *J. Bact.*, **62** : 1.
114. Clark J. B., Wyss O., i Stone W. S., 1949, *Texas Rep. Biol. Med.*, **7** : 83.
115. Clark J. B., Hass F., Stone W. S. i Wyss O., 1950, *J. Bact.*, **59** : 375.
116. Cohen S. S., 1946, *J. Biol. Chem.*, **166** : 393.
117. Cohen S. S., 1947, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **12** : 35.
118. Cohen S. S., 1949, *Bact. Rev.*, **13** : 1.
119. Cohn F., 1872, *Beitr. z Biol. der Pflanzen.*, **1** : 127, Kern, Bresslau.
120. Cole L. J. i Braun W., 1950 a, *J. Bact.*, **60** : 283.
121. Cole L. J. i Braun W., 1950 b, *J. Immunol.*, **64** : 111.
122. Collard P., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol. Roma*, **1** : 233.
123. Cooke E. G. i Hinshelwood C. N., 1947, *Trans. Faraday Soc.*, **43** : 733.
124. Cowan S. T., 1948, *Nature*, **162** : 833.
125. Cafiero M. i Zambruno D., 1952, *Naturwissenschaften*, **39** : 305.
126. Cheidelin V. H. i Nygaard A. P., 1951, *J. Bact.*, **61** : 485, 497.
127. Czekalowski J. W., 1950, *J. Path. Bact.*, **62** : 85.
128. Danysz J., 1900, *Ann. Inst. Pasteur*, **14** : 641.
129. Darlington C. D., 1944, *Nature*, **154** : 164.
130. Davis B. D., 1950, *J. Bact.*, **60** : 507.
131. Davis B. D., 1950 b, *Experientia*, **6** : 41.
132. Davis D. S. i Hinshelwood C. N., 1943, *Trans. Faraday Soc.*, **39** : 431.
133. Davis D. S., Hinshelwood C. N. i Pryce J. M., 1944, *Trans. Faraday Soc.*, **40** : 397.
134. Davis N. F., 1901, *Science*, **13** : 324.
135. Dawson M. H. i Sia R. H. P., 1931, *J. exp. Med.*, **54** : 681.
136. Dean A. C. R. i Hinshelwood C. N., 1951, *J. Chem. Soc.*, : 1157.
137. Deere Ch. J., Dulaney A. D. i Michelson I. D., 1939, *J. Bact.*, **37** : 355.
138. Deere Ch. J., 1939, *J. Bact.*, **37** : 473.
139. De Lamater E. D., 1953, *Bull. Torrey Botan. Club*, **80** : 289.
140. Dementiew G. P., 1947, *Priroda*, :35.
141. Demerec M., 1945, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **31** : 16.
142. Demerec M., 1946, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **32** : 36.
143. Demerec M. i Latarjet R., 1946, *Cold Spring Harb. Symp. Quant Biol.*, **11** : 38.
144. Demerec M., 1948, *J. Bact.*, **56** : 63.
145. Devi P., Pontecorvo G. i Higginbottom C., 1947, *Nature*, **160** : 503.

146. Darwin Ch., 1868, Animals and plants under domestication, v. I.
147. Dienes L., 1932, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **29** : 1205.
148. Dienes L., 1941, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **47** : 385.
149. Dienes L., 1942 a, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **51** : 297.
150. Dienes L., 1942 b., *J. Bact.*, **44** : 37.
151. Dienes L., 1942 c, *J. Bact.*, **44** : 37.
152. Dienes L., 1943, *J. Bact.*, **45** : 21.
153. Dienes L., 1943 b, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **53** : 95.
154. Dienes L. i Smith W. E., 1944, *J. Bact.*, **48** : 125.
155. Dienes L., 1946, *J. Bact.*, **51** : 636.
156. Dienes L., 1946 b, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **63** : 265.
157. Dienes L., 1946 c, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **11** : 51.
158. Dienes L., 1949, *J. Bact.*, **57** : 529.
159. Dienes L., Weinberger H. J. i Madoff S., 1950, *J. Bact.*, **59** : 755.
160. Dieudonné A., 1894, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **16** : 965.
161. Dobell C. S., 1911, *Quart. J. Microsc. Sci.*, **56** : 396.
162. Dobell C. S., 1913, *J. Genetics*, **2** : 325.
163. Doermann A. H. i Hill M. B., 1953, *Genetics*, **38** : 79.
164. Dienes L. i Weinberger H. J., 1951, *Bact. Rev.*, **15** : 245.
165. Dounce A. L., 1950, Cytochemical foundation of enzyme chemistry, w J. B. Sumner i K. Myrbäck, The Enzymes, Academic Press., N. York.
166. Drbohlav J., 1933, *Med. Dośw. Spol.*, **17** : 364.
167. Dubos R. J., 1946, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **11** : 60.
168. Dubos R. J., 1947, The bacterial cell., Harvard Univ. Press. Cambridge, Mass.
169. Dufrenoy J. i Robertson P., 1947 a, *J. Bact.*, **53** : 657.
170. Dufrenoy J. i Robertson P., 1947 b, *J. Bact.*, **54** : 283.
171. Dufrenoy J. i Robertson P., 1948 a, *J. Bact.*, **55** : 525.
172. Dufrenoy J. i Robertson P., 1948 b, *J. Bact.*, **56** : 99.
173. Duguid J. P., 1948, *J. Pathol. Bact.*, **60** : 265.
174. Dulong de Rosnay Ch. i Pasquier du P., 1952, *C. r. Soc. Biol.*, **146** : 1742.
175. Dumoff M. i Duffy E. E., 1951, *J. Bact.*, **61** : 535.
176. Edwards P. R. i Bruner D. W., 1939, *J. Bact.*, **38** : 63.
177. Edwards P. R., Barnes L. A. i Babcoc M. C., 1950, *J. Bact.*, **59** : 135.
178. Effront J., 1893, *C. r. Acad. Sci.*, **117** : 559.
179. Effront J., 1894, *C. r. Acad. Sci.*, **119** : 169.
180. Ehrenberg, 1838, Die Infusionstierchen als folkommene Organismem, wg Krasilnikow.
181. Eisenberg F., 1911, Über Artumwandlung beim *Bac. anthracis*. Mikrobiologentagung, Berlin.
182. Eisenberg F., 1912, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **66** : 1.
183. Eisenberg F., 1913, *Berlin Klin, Wschschr.*, No **4** : 17.
184. Eisenberg F., 1914, Über Mutationen bei Bakterien u. anderen Mikroorganismen, w Weichardt's: Ergebnisse der Immunitätsforschung. B. I.
185. Eisenberg F., 1914 a, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **73** : 449.
186. Eisenberg F., 1914 b, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **73** : 466.
187. Eisenberg F. 1914 c, *Zentr. Bakter., I, Orig.* **73** : 81.
188. Eisenberg F., 1933, *Med. Dośw. Spol.*, **17** : 196.
189. Eisenhart Ch. i Wilson P. N., 1943, *Bact. Rev.*, **7** : 57.
190. Eisenstark A., Mc Mahon K. J. i Eisenstark R., 1950 a, *J. Bact.*, **59** : 79.

191. Eisenstark A., Ward C. B. i Kyle T .S., 1950 b, *J. Bact.*, **60** : 525.
192. Elrod L. P. 1942, *J. Bact.*, **44** : 433.
193. Emerson S., 1944, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **30** : 179.
194. Enderlein G., 1925, Bakterien - Cyklogenie (Prolegomena zu Untersuchungen über Bau, geschlechtliche u. ungeschlechtliche Fortpflanzung u. Entwicklung der Bakterien), Gruyter u. Co, Berlin.
195. Engels F., Dialektyka przyrody, 1953, Książka i Wiedza, Warszawa.
196. Englesberg E. i Stanier R. Y., 1949, *J. Bact.* **58** : 171.
197. Ephrussi B., Hottinguer H. i Chimenes A. M., 1949, *Ann. Inst. Pasteur,* **76** : 351.
198. Ephrussi B. i Hottinguer H., 1950, *Ann. Inst. Pasteur,* **77** : 64.
199. Ephrussi-Taylor H., 1950, *Endavour,* **9** : 80.
200. Epstein T. i Fejgin B., 1928, *Med. Dośw. Spol.* **9** : 272.
201. Eriksen K. R., 1948, *Acta pathol. scand.*., **25** : 249.
202. Evans R. D., 1949, *Science,* **109** : 299.
203. Ewing W. H., 1949, *J. Bact.*, **58** : 497.
204. Ewing W. H. i Hucks R. P., 1950, *J. Bact.*, **60** : 367.
205. Fejgin Br., 1928, *Med. Dośw. Spol.*, **9** : 276.
206. Fejgin Br., 1933, *Med. Dośw. Spol.*, **17** : 262.
207. Ferguson W. W. i Roberts L. F., 1950, *J. Bact.*, **59** : 171.
208. Fildes P. i Whitaker K., 1948, *Brit. J. Exp. Path.*, **28** : 240.
209. Fleck L., 1931, *Pol. Gaz. Lek.* (Lwów), **10** : 522.
210. Fleck L. i Elster O., 1932, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **125** : 180.
211. Flynn C. S. i Rettger L. F., 1934, *J. Bact.*, **28** : 1.
212. Fredericq P. i Gratia A., 1949 a, *C. r. Soc. Biol.*, **143** : 111.
213. Fredericq P. i Gratia A., 1949 b, *C. r. Soc. Biol.*, **143** : 113.
214. Fredericq P. i Gratia A., 1950. *Ann. Inst. Pasteur,* **79** : 627.
215. Fredericq P., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol. Roma,* **1** : 337.
216. Freeman V. J., 1951, *J. Bact.*, **61** : 675.
217. Freeman V. J. i Morse I. U., 1952, *J. Bact.*, **63** : 407.
218. Frendzlowa J. i Szymanowski Z., 1928, *Med. Dośw. Spol.*, **9** : 203.
219. Frendzlowa J. i Szymanowski Z., 1931 a, *Med. Dośw. Spol.*, **14** : 553.
220. Frendzlowa J. i Szymanowski Z., 1931 b, *Med. Dośw. Spol.*, **14** : 591.
221. Freundt E. A., 1950, *Acta Pathol. Scand.*, **27** : 159.
222. Friedberg E. i Vallen J., 1923, *Klin. Wchschr.*, : 1649.
223. Gale E. F. i Epps H. M. R., 1942, *Biochem. J.*, **36** : 600.
224. Gale E. F., 1943, *Bact. Rev.*, **7** : 139.
225. Gale E. F., 1947, *Nature,* **160** : 407.
226. Gale E. F. i Rodwell A. W., 1948, *J. Bact.*, **55** : 161.
227. Gale E. F. i Rodwell A. W., 1949, *J. gen. Microbiol.*, **3** : 127.
228. Gamaleja N., 1894, *Wracz* : 541, 578.
229. Gamaleja N., 1925, *Wracz,* z. 20.
230. Gamaleja N., 1952. Biologiczeskije processy rozrastanija bakterii. Biomedgiz, Moskwa.
231. Gamaleja N., 1951, Sobranie Soczinenij t. II, AN SSSR, Moskwa.
232. Gary N. D. i Bard R. C., 1952, *J. Bact.*, **64** : 501.
233. George M. i Pandalai K. M., 1949, *Lancet,* : 955.
234. Georgi E. E., Militzer W., Burns L. i Hoeltis J., 1951, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **76** : 598.
235. Gieszczykiewicz M., 1933 a, *Med. Dośw. Spol.*, **17** : 318.

236. Gieszczykiewicz M., 1933 b, *Med. Dośw. Społ.*, **17** : 320.
237. Gieszczykiewicz M., 1939, *Bull. Intern. Acad. Polon. Sci., Cl. Mat. N. S. B.*, : : 9.
238. Geeters W., 1952, *Naturwissenschaften*, **39** : 430.
239. Goldie W., Gordon M. i Johnstone K. J., 1948, *J. Path. Bact.*, **60** : 369.
240. Goodlow R. J., Mika L. A. i Braun W., 1950, *J. Bact.*, **60** : 291.
241. Gotschlich E., 1929, Allgemeine Morphologie und Biologie der pathogenen Mikroorganismen w W. Kolle, R. Kraus i P. Uhlenhut, Handbuch der pathogennen Mikroorganismen, Fischer i Urban-Schwarzenberg, Jena.
242. Graczewa N. P., 1946, *Agrobiologja*, z. 3 : 136.
243. Graessle V. E. i Frost B. M., 1946, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **63** : 171.
244. Gratia A. i Fredericq P., 1946, *C. r. Soc. Biol.*, **140** : 1032.
245. Gratia A. i Fredericq P., 1947, *Bull. Soc. Biol.*, **29** : 354.
246. Grenadier A. B., Kucharenko R. P. i Elberi B. J., 1953, *Z. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.*, z. 11 : 30.
247. Greenstein J. P. i Chalkley H. W., 1945 , wg *Biol. Abstr.*, **20** : e. 9440.
248. Griffith F., 1928, *J. Hyg.*, 27 : 113.
249. Grinbaum F. T., 1948, *Ż. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* z. 12 : 5.
250. Grinbaum F. T., 1953, *Ż. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* z. 12 : 3.
251. Grinbaum F. T., Chramowa N. I., Eppel S. A. i Każdan J. J., 1953, *Ż. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* z. 12 : 11.
252. Gróh E., 1937, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **139** : 343.
253. Gros F. i Machboeuf M., 1948, *Ann. Inst. Pasteur*, **74** : 368.
254. Gruschka Th., 1922, *Z. Immunitätsfrsch. exp. Therap.*, **35** : 97.
255. Gudkowa J. I., 1949, Nasledstwiennost' i jejo izmiencziwost' u patogiennych mikrobow wg Sacharow, 1952.
256. Guilliermond A., 1907, wg *Bull. Inst. Pasteur*, **5** : 273, 321.
257. Guilliermond A., 1910, *Arch. Protistenkunde*, **19**.
258. Gutstein M., 1925, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **95** : 357.
259. Haas F., Wyss O. i Stone W. S., 1948, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **34** : 229.
260. Haas F. i Wyss O., 1949, *Texas Rep. Biol. Med.*, **7** : 81.
261. Hadley P., 1927, *J. inf. Dis.*, **40** : 1.
262. Hadley P., Delves E. i Klimek J., 1931, *J. inf. Dis.*, **48** : 1.
263. Hadley P., 1937, *J. inf. Dis.*, **60** : 129.
264. Havens L. C. i Irwin A. G., 1932, *J. inf. Dis.*, **50** : 550.
265. Hauduroy P., 1936, Ultrawirusy, tłum. ros. Biomedgiz, Moskwa.
266. Hefferan M., 1903, *Zentr. Bakt. II*, **11** : 456.
267. Heinzel E., 1950, *Arch. Mikrobiol.*, **15** : 119.
268. Henrici A. T., 1938, Morphologic variation and the rate of growth of bacteria, C. C. Thomas, Springsfield, 111.
269. Henriksen S. D., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol. Roma*, **2** : 310.
270. L'Heritier Ph., 1948, *Heredity*, **2** : 325.
271. Hershey A. D. i Bronfenbrenner J., 1936, *J. Bact.*, **31** : 453.
272. Hershey A. D., 1946, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **11** : 67.
273. Hershey A. D. i Davidson H., 1951, *Genetics*, **36** : 667.
274. Hesselbrook W. i Forshay L., 1945, *J. Bact.*, **49** : 209.
275. Hesselbrook W. i Forshay L., 1945 b, *J. Bact.*, **49** : 233.
276. Hewitt L. F., 1951, *J. gen. Microbiol.*, **5** : 287.
277. Hewitt L. F., 1952, *J. gen. Microbiol.*, **7** : 362.
278. Hiller J., Mudd St., i Smith A. G., 1949, *J. Bact.*, **57** : 319.

279. Hinshelwood C. N., 1944, *Biol. Rev.*, **19** : 50.
280. Hinshelwood C. N., 1946., The Chemical Kinetics of Bacterial Cell. Oxford Univ. Press, London.
281. Hinshelwood C. N., 1950, *Nature*, **166** : 1089.
282. Hinshelwood C. N., i Jackson S., 1950, *Proc. Roy. Soc., B.* **137** : 88
283. Hirst G. K. i Gotlieb T., 1953, *J. exp. Med.*, **98** : 41.
284. Hoerlein B. F., 1948, *J. Bact.*, **56** : 139.
285. Hoffman H., 1951, *J. Bact.*, **62** : 561.
286. Hoffstadt R. E. i Youmans G. P., 1938, *J. Bact.*, **35** : 511.
287. Hollaender A., 1945, *Ann. Missouri Botan. Gard.*, **32** : 165.
288. Holmes B., 1950, *Nature*, **165** : 266.
289. Horowitz N. H., 1945, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **31** : 153.
290. Hotchkiss M., Ciegler A., Harrison N., Meyers E. i Pattie B., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol. Roma*, **1** : 275.
291. Hotchkiss R. D., 1951, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **16** : 457.
292. Hughes W. H., 1952, *J. gen. Microbiol.*, **7** : IV.
293. Hughes W. H., 1952, *J. gen. Microbiol.*, **6** : 175.
294 Huxley J., 1949, The new systematics. Oxford Univ. Press, London.
295. Hübner ., 1909-wg *Zentr. Bakter., I, Ref.*, **44**
296. Ilienko W. J., Kriwiski A. S. i Jurikas J. A., 1953, *Nowosti Medic.* : 13.
297. Imszeniecki A. A., 1940, Strojenje baktierii, AN SSSR, Moskwa.
298. Imszeniecki A. A., 1941, *Mikrobiologia*, **10** : 3.
299. Imszeniecki A. A. i Łoginowa L. G., 1944, *Mikrobiologia*, **13** : 136.
300. Imszeniecki A. A., 1945, *Mikrobiologia*, **14** : 64.
301. Imszeniecki A. A., 1946, *Usp. Sowr. Biol.*, **21** : 455.
302. Imszeniecki A. A., 1948, *Mikrobiologia*, **17** : 218.
303. Imszeniecki A. A., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol. Roma*, **1** : 338.
304. Imszeniecki A. A. i Sołncewa L. I., 1954, *Mikrobiologia*, **23** : 27.
305. Iwanowa N. A., 1953, *Z. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. z.* **11** : 12.
306. Irailski W. P., 1933, *Trudy Inst. Sicl.-Choz. Mikrobiol.*, 5.
307. Izrailski W. P., 1953, *Mikrobiologia*, **22** : 645.
308. Izrailski W. P., 1954, *Mikrobiologia*, **23** : 22.
309. Jackson S. i Hinshelwood C. N., 1949, *Proc. Roy. Soc., B.* **136** : 562
310. Jackson S. i Hinshelwood C. N., 1950, wg Bucher K. i Doerr R., 1950.
311. Jacobsen ., 1910, *Zentr. Bakter., I. Orig.*, **66** : 208.
312. Jelin W. Ł. i Satanowska F. J., 1953, *Z. Mikrobiol. Epidemiol. Imunobiol.*, : 33.
313. Jenner R. i Szafarz D., 1950, *Experientia*, **6** : 60.
314. Jennings H. S., 1908, *J. exp. Zool.*, **5** : 577.
315. Jensen J. i Thofern R., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol. Roma*, **1** : 279.
316. Jerusalimski N. D., 1951, *Mikrobiologia*, **20** : 205.
317. Jerusalimski N. D., 1952, *Trudy Inst. Mikrobiol. AN SSSR. z.* **1** : 5.
318. Jerusalimski N. D., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol. Roma*, **1** : 341.
319. Johnson F. H. i Gray D. H., 1949, *J. Bact.*, **58** : 675.
320. Jollos V., 1913, *Biol. Zentralbl.*, **33** : 222.
321. Jollos V., 1921, *Arch. Protistenkunde*, **43** : 1.

322. Jollos V., 1934, *Arch. Protistenkunde*, **83** : 197.
323. Jones D. H., 1920, *J. Bact.*, **5** : 325.
324. Juhasz I., 1954, *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*, **5** : 261.
325. Kahn M. C., 1932, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **125** : 451.
326. Kalina G. P., 1949, Izmienczywost patogiennych mikroorganizmow. G[illegible] dizdat. USSR, Kijew.
327. Kalina G.P., 1953, *Mikrobiologia*, **22** : 723.
328. Karajewa L. T. i Atanilaszwili N. L., 1953, *Z. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.*, z. **11** : 31.
329. Karström H., 1930, Über die Enzymbildung bei Bakterien, Helsingsfors.
330. Karwacki L., 1933, *Med. Dośw. Spol.*, **17** : 230.
331. Kauffmann F., 1945, *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, **21** : 72.
332. Kauffmann F., 1949, *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **26** : 381.
333. Keleti T., Szabolcsi G., Lendvai A. i Garzo T., 1954, *Acta. Physiol. Acad. Sci. Hung.*, **5** : 215.
334. Kiedrowski W., 1935, *Arch. Pat. Anat. Pat. Fizjol.*, **1** : 13.
335. Kjedrowski W., 1951, *Usp. Sowr. Biol.*, **31** : 38.
336. Kirchensztajn A., 1943, *Mied. Sowriemiennik, z.* **13** : 41.
337. Klein B. I. i Smu-Schulc V. N., 1948, *Mikrobiologia*, **17** : 229.
338. Klein M. i Perez J. E., 1948, *J. Immunol.*, **60** : 349.
339. Klieneberger E., 1930, *Zentr. Bakt., I, Orig.*, **117** : 344.
340. Klieneberger E., 1931, *Klin. Wschr.*, : 2293.
341. Klieneberger E., 1935, *J. Path. Bact.*, **40** : 93.
342. Klieneberger E., 1944, *J. Path. Bact.*, **56** : 286.
343. Klieneberger-Nobel E., 1945, *J. Hyg.*, **44** : 99.
344. Klieneberger-Nobel E., 1949, *J. gen. Microbiol.*, **3** : 434.
345. Klieneberger-Nobel E., 1951, *J. gen. Microbiol.*, **5** : 434.
346. Klieneberger-Nobel E., 1951 b, *Bact. Rev.*, **15** : 77.
347. Kluyver A. J. i Baars J. K., 1932, *Proc. Sec. Sci.Acad. Wettenschappen*, Amsterdam, : 370.
348. Kluyver A. J. i Van Niel C. B., 1936, *Zentr. Bakter., II*, **94** : 369.
349. Knaysi G., 1940, *J. Bact.*, **40** : 247.
350. Knaysi G., 1941, *J. Bact.*, **42** : 575.
351. Knaysi G., 1951, Elements of bacterial cytology, Colmstock Publ. Co. Ithaca, N. Y.
352. Kolakow J. J., 1952. Wietierinarnaja mikrobiologia, Sielchozgiz., Moskwa.
353. Knight B. C. J. G., 1936, Bacterial nutrition, London, wg Snell, 1951.
354. Knöll H. i Zapf K., 1951, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **157** : 389.
355. Koblmüller L. O., 1937, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **139** : 270.
356. Kohn H. D. i Harris J. S., 1942, *J. Bact.*, **44** : 717.
357. Kolcow N. H., 1938, *Biol. Żurn.*, **7** : 3.
358. Koller P. C., 1947, *Symp. Soc. Exp. Biol., Cambridge*, : 270.
359. Komarow W. Ł., 1945 a, Wid i jewo podrazdielenia, Izbr. Soczinienia, t. I, AN SSSR, Moskwa, s. 3.
360. Komarow W. Ł., 1945 b, Uczenje o widie u rastienii, *l. c*, s. 123.
361. Komarow W. Ł., 1945 c, Widoobrazowanie, *l. c*, s. 28.
362. Komokotina A. G., 1939, *Tr. Inst. Mikrobiol. Epidemiol.*, : 259.
363. Kořinek J. i Pokorný V., 1951, *Bull. Intern. Acad. Tcheque. Sci., Cl. Sci. Math. Nat. Med.*, **52** : 73.
364. Korobkowa J. I., 1933, *Wiestn. Mikrobiol. Epidemiol. Parazitol., z.* **12** : 21.

365. Korobkowa J. I., 1937, *Wiestn. Mikrobiol. Epidemiol. Parazitol.*, 16, z. 1/2.
366. Kosikow K. W., 1950, *Trudy Inst. geniet.*, **18** : 185.
367. Kosjakow M. G.,1887, *Ann. Inst. Pasteur*, **1** : 465.
368. Krasilnikow N. A., 1931, *Żurn. Mikrobiol.*, **12** : 16.
369. Krasilnikow N. A., 1938, *Mikrobiologia.*, **7** : 1050.
370. Krasilnikow N. A., 1941, *D. A. N. SSSR.*, 31 z. 1.
371. Krasilnikow N. A., 1941 b, *Mikrobiologia*, **10**, z. 4.
372. Krasilnikow N. A., 1945, *Mikrobiologia*, **14** : 164.
373. Krasilnikow N. A., 1945 b, *Mikrobiologia*, **14** : 377.
374. Krasilnikow N. A., 1948, *Mikrobiologia*, **17** : 105.,
375. Krasilnikow N. A., 1949, Opriedielitiel baktierii i aktinomicetow, AN SSSR. Moskwa.
376. Krasilnikow N. A.,1954, *Usp. Sowr. Biol.*, **37** : 22.
377. Kořinek J., 1948, Mikrobiologie, Universum. Praha
378. Krieg A., 1953. *Naturwissenschaften*, **40** : 414.
379. Kriestownikowa W. A., 1947, *Żurn. Mikrobiol Epidemiol. Immunobiol.* z. 5.
380. Kristensen M., 1948, *Acta Pathol. Microbiol., Scand.*, **25** : 244.
381. Kriwiski A. S., 1952, *Priroda*, : 60.
382. Kriwiski A. S., 1953, *Nowosti Miedyc.*, : 20.
383. Kruif de P., 1921, *J. exp. Med.*, **33** : 773, **35** : 561.
384. Kruif de P., 1922, *J. exp. Med.*, **36** : 309, 621.
385. Kunicki-Goldfinger Wł., Dygdała K., Tuszyńska B. i Doleżko H., *Acta Microbiol. Polon.*, **3** : 93.
386. Krzemieniewski S. i Krzemieniewska H., 1926, *Acta Soc. Botan. Polon.*, **4** : 1.
387. Krzemieniewski S. i Krzemieniewska H., 1928, *Acta Soc. Botan. Polon.* **5** : 46.
388. Krzyształowicz F. i Siedlecki M., 1905, *Przegl. Lek.*, No **31** : 497.
389. Kubo T., 1939, *Arch. exp. Zellforschg.*, **23** : 258.
390. Kuhn Ph. i Sternberg K., 1931, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **121** : 47.
391. Kunicki-Golfinger Wł. 1950, *Ann, UMCS, S. C.*, **4** : 395.
392. Kunicki-Goldfinger Wł., 1951, Zmienność bakterii *Mat. Konf. Agrobiol. Biol. Med.* w Kuźnicach, 1 : 94.
393. Kunicki-Goldfinger Wł., 1953, *Kosmos*, **3** : 25.
394. Kunicki-Goldfinger Wł., Stachal Wł. i Urbańska M., 1953, *Acta Microbiol. Polon.*, **2** : 287.
395. Kuprejczuk M. A., 1953, *Mikrobiologia*, **22** : 535.
396. Kursanow L. I., 1945, *Mikrobiologia*, **14** : 210.
397. Kurylowicz W. i Ślopek St., 1947, *Med. Dośw. Społ.*, **25** : 229.
398. Kushnik T., Randles C. J., Gray C. T. i Birkeland J. M., 1947, *Science*, **106** : 587.
399. Kwapiński J., 1948, *Gruźlica*, **17** : 159.
400 Kwaszina A., 1931, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **120** : 227.
401. Larbaw L. W., Mosley V. M. i Wyckoff R. W. G., 1950, *J. Bact.*, **59** : 251.
402. Lahelle O., 1947, *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **24** : 567.
403 Laidlow P. P. i i Elford W. J., 1936, *Proc. Roy. Soc. B*, **120** : 292.
404. Lamanna C., 1940, *J. inf. Dis.*, **67** : 193.
405. Lamanna C. i Mallette M. F., 1949, *Arch. Biochem.*, **24** : 451.
406. Landy M. i Gerstung R. B., 1947, *J. Immunol.*, **51**:269.

407. Landgvad-Nielsen A., 1943, Transformation of type in the pneumococcus group. Nyt Nordisk Farlag, Copenhagen.
408. Latarjet R., 1948, *C. r. Soc. Biol.*, **142** : 453.
409. Lea D. E. i Catchesides D. G., 1945, *J. Genetics*, **47** : 41.
410. Lea D. E. i Coulson C. A., 1949, *J. Genetics*, **49** : 264.
411. Lebiediew D. W., *Priroda*, z **4** : 50.
412. Lebiediew D. W., *Priroda*, z 5 : 51.
413. Leeuwenhoeck A. V., 1693, List LXXVI, z dn. 15.X.1693 r.
414. Lederberg J. i Tatum E. L., 1945, *J. Biol. Chem.*, **165** : 381.
415. Lederberg J. i Tatum E. L., 1946 a, *Nature*, **158** : 558.
416. Lederberg J. i Tatum E. L., 1946 b, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **11** : 113.
417. Lederberg J., 1947. *Genetics*, **32** : 505.
418. Lederberg J., 1948, *Genetics*, **33** : 617.
419. Lederberg J., 1949, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **35** : 178.
420. Lederberg J., 1950, *J. Bact.*, **59** : 211.
421. Lederberg J., 1951, Inheritance, variation and adaptation, w C. H. Werkman and P. W. Wilson, Bacterial Physiology, Academic Press, New York.
422. Lederberg J., 1952, Introduction to Microbial Genetics, Univ. Wisconsin Press. Madison.
423. Legroux R. i Magrou J., 1920, *Ann. Inst. Pasteur*, **34** : 417.
424. Lemberg R., Tondy T. i Goldsworthy N. E., 1946, *Nature*, **157** : 103.
425. Lenin W. I., Materializm i empiriokrytycyzm, Warszawa, 1949, s. 300.
426. Leontiew I. F., 1947, *Priroda*, : 69.
427. Lepine P. i Sautter V., 1946, *Ann. Inst. Pasteur*, **72** : 174.
428. Lewis I. M., 1934, *J. Bact.*, **28** : 619.
429. Lewis I.M., 1941, *Bact. Rev.*, **5** : 181.
430. Lindegren C. C., 1942, *Iowa Sta. Coll. J. Sci.*, **16** : 307 wg *Vet. Bull.* 1947, 17 : 12, entry — 59.
431. Lindegren C. C., 1945, *Bact. Rev.*, **9** : 11.
432. Lindegren C. C. i Lindegren G., 1946, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **11** : 115.
433. Lindegren C. C. i Raut C., 1947, *Ann. Missouri Botan Gard.*, **34** : 75.
434. Lisbone, Negre, Roman i Seigneuvin, 1938, *Ann. Inst. Pasteur*, **61** : 822.
435. Loring H. S., 1944, *Ann. Rev. Biochem.*, **13** : 295.
436. Löhnis F. i Hanzawa J., 1914, *Zentr. Bakter., II*, **42** : 1.
437. Löhnis F. i Smith N. R., 1916, *J. Agric. Res.*, **6** : 675.
438. Löhnis F., 1921, *Mem. Nat. Acad. Sci.* **16** : 5.
439. Loveless A. i Revell S., 1949, *Nature*, **164** : 938.
440. Luria S. E. i Delbrük M., 1943, *Genetics*, **28** : 491.
441. Luria S.E., 1946, *Cold Spring Harb. Quant. Biol.*, **11** : 130.
442. Luria S. E. i Dulbecco R., 1949, *Genetics*, **34** : 93.
443. Luria S. E. i Human M. L., 1950, *J. Bact.*, **59** : 551.
444. Lwoff A., 1943, L'evolution physiologique, Hermann et Cie, Paris.
445. Lwoff A., 1946, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **11** : 139.
446. Łoginowa Ł. G., 1951, *Mikrobiologia*, **20** : 380.
447. Makowska H., 1931, *Med. Dośw. Spol.*, **14** : 579.
448. Malmgren B. i Heden C. G., 1947 a, *Nature*, **159** : 577.

449. Malmgren B. i Heden C. G., 1947 b, *Fourth Int. Congr. Microbiol.* Copenhagen : 26.
450. Mamacaszwili Ż., 1954, *Ż. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol., z.* **1** : 75.
451. Miszustin E. N., 1950, *Gig. i Sanit.*, z. 5. polskie tłum. 1952, *Post. Wiedzy Roln.* :1.
452. Massart, Peters i Van Houcke, 1947, wg Dufrenoy i Robertson, 1948 b.
453. Massini R., 1907, *Arch. Hyg.*, **61** : 250.
454. Mazur Bł. i Szarowska W. N., 1953, *Ż. Mikrobiol. Immunobiol.*, z. **11** : 24.
455. Mc Carty M., 1946, *Bact. Rev.*, **10** : 63.
456. Mc Carty M., Taylor H. E. i Avery P. T., 1946, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **11** : 177.
457. McIlroy A. P., Axelrod A. E. i Mellon R. R., 1948, *J. Bact.*, **56** : 547.
458. Medawar P. B., 1949, *Brit. Sci. News*, **2** : 148.
459. Mefferd R. B. i Wyss P., 1951, *J. Bact.*, **61** : 357.
460. Mefferd R. B. i Campbell L. L., 1952, *Texas Rep. Biol. Med.*, **10** : 419.
461. Mejsel M. N. i Kondratiewa T. M., 1945, *Mikrobiologia*, **14** : 241.
462. Mellon R. R. i Anderson L. M., 1919, *J. Immunol.*, **4** : 203.
463. Mellon R. R., 1926, *J. Bact.*, **11** : 203.
464. Mellon R. R., 1932, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **30** : 80.
465. Mellon R. R., Richardson R. D. i Fischer L. W., 1932, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **30** : 1,80.
466. Mellon R. R., 1942, *J. Bact.*, **44** : 1.
467. Merežkowski C., 1910, *Biol. Centrbl.*, **30** : 278, 289, 321, 353.
468. Mesrobeanu L., Paunescu E. i Mitrica N., 1949, *Bul. Stiint.* Bucharest z. 1/3.
469. Mesrobeanu L. i Mitrica N., 1951, *Stud. Cercet. Inframicrobiol. Microbiol. Parasitol. Acad. RPR.*, **2** : 307.
470. Mesrobeanu L., Mitrica N. i Radulescu E., 1952, *Stud. Cercet. Inframicrobiol. Microbiol. Parasitol. Acad. RPR.*, **3** : 129.
471. Meyer A., 1912, Die Zelle der Bakterien, G. Fischer, Jena.
472. Miller C. P. i Bohnhoff M., 1947, *Science*, **105** : 620.
473. Mirsky A.F., 1947, *Cold. Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **12** : 7 (dyskusja nad referatem Boivin).
474. Miszustin E. N., 1948, Ekologo-gieograficzeskaja izmienczivost' poczwiennych mikroorganizmow, AN SSSR, Moskwa, wg Miszustin, 1954 a.
475. Miszustin E. N., 1950, *Gigiena i Sanit.*, **5** : 5.
476. Miszustin E. N., 1954 a, *Usp. Sowr. Biol.*, **37** : 1.
477. Miszustin E. N., 1954 b, Drobnoustroje termofilne w przyrodzie i praktyce, PIWRL, Warszawa.
478. Mitchell H. K. i Houlahan M. B., 1946, *Amer. J. Botan.*, **33** : 31.
479. Mitchell P., 1949, *Nature*, **164** : 259.
480. Monod J., 1947. *Growth*, **11** : 223.
481. Monod J., Torriani A. M. i Gribetz J., 1948, *C. r. Acad. Sci.*, **227** : 315.
482. Moran A. i Bruner D. W., 1949, *J. Bact.* **58** : 695.
483. Mørch E. i Knipschildt H. E., 1944, *Acta Pathol. Scand.*, **21**:102.
484. Mudd S., 1948, *Nature*, **161** : 302.
485. Mudd S. i Smith A. G., 1950, *J. Bact.*, **59** : 561.
486. Mudd S., Smith A. G., Hillier J. i Beutner E. H., 1950 b, *J. Bact.* **60** : 635.

487. Mudd S., Winterscheid L. C., De Lamater E. D. i Henderson H. J., 1951 a, *J. Bact.*, **62** : 459.
488. Mudd S., Brodie A. F., Winterscheid L. C., Hartman P. E., Beutner E. H. i Mc Lean R. A., 1951 b, *J. Bact.*, **62** : 729.
489. Muromcew S. N., 1949, *Weterinaria*, : 5.
490. Muromcew S. N., 1951, *Z. Obszcz. Biol.*, **12** : 161.
491. Müller R., 1911, *Zentr. Bakter.*, I,*Orig.*, **58** : 97.
492. Murphy J. S., 1953, *J. exp. Med.*, **98** : 657.
493. Murray R. G. E. i Douglas H. C., 1950, *J. Bact.*, **59** : 157.
494. Müller R., 1909, *Die Umschau*, **13** : 397.
495. Neisser M., 1906, wg *Zentr Bakter., I, Ref.*, **38** : 98, Beiheft.
496. Neufeld F. i Levinthal W., 1928, *J. Immun.*, **55** : 325.
497. Neumann F., 1941, *Zentr. Bakter., II*, **103** : 385.
498. Newcombe H. B., 1948, *Genetics*, **33** : 447.
499. Newcombe H. B., 1949, *Nature*, **164** : 150.
500. Newcombe H. B. i Whitehead H. A., 1951, *J. Bact.*, **61** : 243.
501. Nowak J. i Ciechanowski S., 1896, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **20** : 679.
502. Nowak J., 1927. Documenta Microbiologica, Fischer, Jena.
503. Nowick A. i Szilard L., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol. Roma*. **1** : 348.
504. Nickerson W. J., 1948, *Nature*, **162** : 241.
505. Nungester W. J., 1938, *J. Bact.*, **30** : 259.
506. Nutini L. G. i Lynch E. M., 1945 a, *Nature*, **156** : 419.
507. Nutini L. G. i Lynch E. M., 1945 b, *J. Bact.*, **50** : 177.
508. Oparin A. M., 1941, Wozniknowienje żizni na ziemlie, AN SSSR, Moskwa.
509. Orla Jensen S., 1909, *Zentr. Bakter., II*, **22** : 305.
510. Orla Jensen S., 1921, *J. Bact.*, **6** : 263.
511. Ørskov J., 1938, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **141** : 230.
512. Ørskov J., 1947, *Acta Pathol. Scand.*, **24** : 198.
513. Osterman E. i Rettger L. F., 1941, *J. Bact.*, **42** : 721.
514. Padlewski L., 1928, *Med. Dośw. Społ.*, **9** : 123
515. Panek i Zacharow, 1928 — wg Panek 1933.
516. Panek K., 1933, *Med. Dośw. Społ.*, **17** : 254.
517. Pappenheimer A. M. i Hottle G. A., 1940, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **44** : 645.
518. Painter T. S., 1944, *Texas Rep. Biol. Med.*, **2** : 206.
519. Parr L. W., 1938, *J. Bact.*, **36** : 1.
520. Parr L. W., *Bact. Rev.*, **3** : 1.
521. Parvis D., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol, Roma*, **1** : 65.
522. Pasteur L.: Oeuvres t. VII, Masson et Cie., Paris 1922.
523. Pauling L., 1948, *Endavour*, **7** : 48.
524. Patočka F. i Šebek V., 1951, *Bull. Intern. Tcheque Ac. Sci., Cl. Sci. Mat. Nat. Med.*, **52** : 307.
525. Peacocke A. R. i Hinshelwood C. N., 1948 a, *Proc. Roy. Soc., B*, **135** : 451.
526. Peacocke A. R. i Hinshelwood C. N., 1948 b, *J. Chem. Soc.*, : 2290.
527. Pelleroni N. J. i Lindegren C. C., 1953, *J. Bact.*, **65** : 122.
528. Perec L. G., 1953, *Ż. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.*, z. 11 : 71.
529. Perez J. E., Baratt-Perez J. i Klein M., 1949, *J. Immunol.*, **62** : 405.
530. Piasecka-Zeyland E. i Zeyland J., 1933 a, *Med. Dośw. Społ.*, **17** : 261.
531. Piasecka-Zeyland E. i Zeyland J., 1933 b, *Gruźlica*, **8** : 321.

533. Pakuła R., 1954, Paciorkowce, PZWL, Warszawa.
534. Piekarski G., 1937, *Arch. Mikrobiol.*, **8** : 428.
535. Piekarski G., 1938, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **142** : 69.
536. Pieszkow M. A., 1938, *Biol. Żurn.*, **7** : 1035.
537. Pieszkow M. A., 1945, *Ż. Mikrobiol. Epidemiol. Immunol.*, z. 4—5 : 10.
538. Pieszkow M. A., 1946 a, *Mikrobiologia*, **15** : 341.
539. Pieszkow M. A., 1946 b, *Nature*, **157** : 137.
540. Pieszkow M. A. i Niechotienowa E. I., 1948, *Mikrobiologia*, **17** : 229.
541. Pietschman K., 1931, *Arch. Mikrobiol.*, **2** : 310.
542. Pietschman K. i Rippel A., 1932, *Arch. Mikrobiol.*, **3** : 422.
543. Pochon J., Tchan Y. T. i Wang T. L., 1948, *Ann. Inst. Pasteur*, **74** : 182.
544. Poe Ch. i Tregoning J. J., 1946, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **63** : 561.
545. Poetschke G., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol. Roma*, **1** : 70.
546. Pokrowska M., 1929, *Żurn. Mikrobiol. Patol. Inf. Bol.*, **6**, z. 2.
547. Pokrowska M., 1934, *Wiestn. Mikrobiol. Epidemiol. Parazitol.*, 13, z. 1.
548. Pratt R. i Dufrenoy J., 1948, *Bact. Rev.*, **12** : 79.
549. Pratt R. i Dufrenoy J., 1949, *J. Bact.*, **57** : 79.
550. Prażmowski A., 1912, *Zentr. Bakter., II*, **33** : 232.
551. Preisz H. V., 1937, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **139** : 225.
552. Prell H., 1932, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **124** : 208.
553. Prevot A. R. i Raynaud M., 1948, *Ann. Inst. Pasteur*, **74** : 334.
554. Porter J. R., 1947, Bacterial Chemistry and Physiology, J. Wiley, N. York.
555. Pringsheim H., 1910, Die Varabilität niederen Organismen, J. Springer, Berlin.
556. Prittwitz und Gaffron v. J., 1953, *Naturwissenschaften*, **40** : 590.
557. Pryce J. M. G., Davies D. S. i Hinshelwood N. C., 1945, *Trans. Faraday Soc.*, **41** : 456.
558. Pulvertaft R. J. V., 1950, *J. gen. Microbiol.*, **4** : XIV.
559. Raettig H., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol. Roma*, **1** : 74.
560. Raffel D., 1932, *J. exp. Zool.*, **63** : 371.
561. Rahn O., 1937, *Zentr. Bakter., II*, **96** : 273.
562. Ramsbottom J., 1949, Taxonomic problems in fungi — w Huxley J. 1949, The new systematics.
563. Rautensztajn J. I., 1946, *Mikrobiologia*, **15** : 291.
564. Ravin A. W., 1952, *J. gen. Microbiol.*, **6** : 211.
565. Rayman B. i Kruis K., 1903, *Bull. Intern. Acad. Sci. Boheme* : 9.
566. Redakcyjny art., 1954, *Mikrobiologia*, **23** : 197.
567. Reimann H. A., 1929, *J. exp. Med.*, **49** : 237.
568. Renault B., 1896, *Ann. Sci. Natur. Botan.*, **2** : 275.
569. Richter K., 1934, *Zentr. Bakter., II*, **90** : 134.
570. Ris H. i Fox J. P., 1949, *J. exp. Med.*, **89** : 681.
571. Roberts J. L., 1935, *J. Bact.*, **35** : 59.
572. Robinow C. F., 1942, *Proc. Roy. Soc., B*, **130** : 299.
573. Robinow C. F., 1944, *J. Hyg.*, **43** : 413.
574. Robinow C. F., 1947, Nuclear apparatus and cell structure of rod-shaped bacteria. Addendum to Dubos R. J. 1947.
575. Rothfels K. H., 1952, *Genetics*, **37** : 297.
576. Rothen A., 1945, *Science*, **102** : 446.
577. Rowley D. 1952, *J. gen. Microbiol.*, **6** : 272.
578. Rudakow K. J., 1934, *Zentr. Bakter., II*, **90** : 67.

579. Ryan F. J., 1946, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **11** : 215.
580. Ryan F. J. i Schneider L. K., 1949, *J. Bact.*, **58** : 181, 191, 201.
581. Ryan F. J., 1952, *J. gen. Microbiol.*, **7** : 69.
582. Sabella A., 1925, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **94** : 411.
583. Sabin A. B., 1941, *Bact. Rev.*, **5** : 1.
584 Sacharow P. P. i Gudkowa J. I., 1944, *Z. Mikrobiol. Epidemiol. Immunol.*, z. 9 : 32.
585. Sacharow P. P.,1948, *Wiestn. Moskowsk. Uniw.*, z. 12 : 39.
586. Sacharow P. P., 1952, Nasliedowanje priobrietajemych swojstw, Sow. Nauka, Moskwa.
587. Sager R. i Granick S., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol. Roma.* **1** : 352.
588. Salzman M., 1914, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **75** : 105.
589. Sanarelli G. i Alessandrini A., 1932, *Ann. Igiene.*, **42** : 129.
590. Sanarelli G. i Alessandrini A., 1933, *Ann. Inst. Pasteur.*, **50** : 167.
591. Sapożnikow D. I., 1951, *Mikrobiologia*, **20** : 430.
592. Sarl Mez, 1924, w Abderhaldens Handbuch der Biologischen Arbeitsmethoden, Abt. XI, Teil I, Heft 7.
593. Schaede R., 1939, *Arch. Mikrobiol.*, **10** : 473.
594. Schnabel A., 1924, *Klin. Wschr.*, **3** : 566.
595. Schnabel A. i Kasarnowsky S., 1924, *Klin. Wschr.*, **3** : 146.
596. Schuckmann W. i Piekarski G., 1940, *Arch. Protistenkunde*, **93** : 355.
597. Seiffert G., 1937a, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **139** : 337.
598. Seiffert G., 1937b, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **140** : 168.
599. Sergent E., Durand H. i Benda R., 1928, *C. r. Soc. Biol.*, **99** : 28.
600. Sevag M. G., Gots J. S. i Steers E., 1950, Enzymes in relation to genes, viruses, hormones, vitamins and chemotherapeutic drug action w J. B. Sumner i K. Myrbäck, The Enzymes, Academic Press, N. York.
601. Severens J. M. i Tanner F. W., 1945, *J. Bact.*, **49** : 383.
602. Shapiro A., 1946, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **11** : 228.
603. Skerman V. B. D., 1949, *Bact. Rev.*, **13** : 175.
604. Słonimski P. P., 1949, *Ann. Inst. Pasteur*, **76** : 510.
605. Słonimski P. P. i Ephrussi B., 1950, *Ann. Inst. Pasteur*, **77** : 47.
606. Smith J. H., 1913, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **68** : 151.
607. Smith N. R. i Clark F. E., 1938, *J. Bact.*, **35** : 59.
608. Smith P. F. i Morton H. E., 1951, *J. Bact.*, **61** : 395.
609. Smith W. E., Hiller J. i Mudd S., 1948 a, *J. Bact.*, **56** : 589.
610. Smith W. E. Mudd S. i Hiller J., 1948 b, *J. Bact.*, **56** : 603.
611. Schaudinn F., 1902, *Arch. Protistenkunde*, **1** : 306.
612. Smorodincew A. A. i Kriwicki A. S., 1953, *Nowosti Miedyc.*, : 1.
613. Snell E. E., 1951, Bacterial nutrition and chemical factors, w Werkman C. H. i Wilson P. W., Bacterial Physiology, Academic Press, N. York 1951.
614. Soberheim i Seligman ., 1909, *Zentr. Bakter., I, Ref.*, **44** : 50.
615. Solncewa L. I., 1949, *Mikrobiologia*, **18** : 233.
616. Solncewa L. I., 1953, *Mikrobiologia*, **22** : 652.
617. Somowa A. G., 1951, *Z. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.*, : 16.
618. Sonneborn T. M., 1949, *Ann. Rew. Microbiol.*, **3** : 55.
619. Sonnenschein K., 1929, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **111** : 177.
620. Soru E., Dumitrescu - Paduraru M., Stamatescu M. i Toma E.,1952, *Stud. Cercet. Inframicrobiol. Microbiol. Parazitol. Acad. RPR.*, **3** : 149.

621. Spiegelmann S., 1945, *Ann. Missouri Botan. Gard.*, **32** : 139.
622. Spiegelmann S., Lindegren C. C. i Lindegren G., 1945, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **31** : 95.
623. Spiegelmann S., 1946, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **11** : 256.
624. Spiegelmann S., 1950, Modern aspects of enzymatic adaptation w J. B. Sumner i K. Myrbäck The Enzymes, Academic Press, N. York.
625. Stanier R. Y. i Van Niel C. R., 1941, *J. Bact.*, **42** : 437.
626. Stanier R. Y., 1942, *J. Bact.*, **44** : 555.
627. Stanier R. Y., 1947, *J. Bact.*, **54** : 339.
628. Stanier R. Y., 1951, *Ann. Rev. Microbiol.*, **5** : 35.
629. Stapp C., 1944, *Zentr. Bakter., II*, **106** : 338.
630. Stempen H., 1950, *J. Bact.*, **60** : 81.
631. Stempen H. i Hutchinson W. G., 1951, *J. Bact.*, **61** : 321, 337.
632. Stephenson M., 1949, Bacterial Metabolism, Longmans i Green, London
633. Stewart Bt. i Halvorson H. O., 1953, *J. Bact.*, **65** : 160.
634. Stewart F. H., 1926a, *J. Hyg.*, **25** : 237.
635. Stewart F. H., 1928, *J. Hyg.*, **27** : 379.
636. Stewart F. H., 1942, *J. Hyg.*, **41** : 497.
637. Štercl J., 1948, *Biol.-Listy*, **29** : 198.
638. Stier T. J. B. i Castor J. G. R., 1941, *J. gen. Physiol.*, **25** : 229.
639. Stille B., 1937, *Arch. Mikrobiol.*, **8** : 125.
640. Stocker B. A. D., Zinder N. D. i Lederberg J., 1953, *Riass. Com. VI Congr. Intern. di Microbiol.*, Roma. **1** : 354.
641. Stokes J. L. i Weaver R. H., 1938, *J. Bact.*, **35** : 20.
642. Stoughton R. H., 1929, *Proc. Roy. Soc., B*, **105** : 470.
643. Stoughton R. H., 1932, *Proc. Roy. Soc., B*, **111** : 47.
644. Strandskov F. B., 1947, *J. Bact.*, **53** : 555.
645. Stuart C. A., Griffin A. M. i Baker M. E., 1938, *J. Bact.*, **36** : 391.
646. Stuart C. A., 1943, *J. Immunol.*, **47** : 425.
647. Stuart C. A., Wheeler K. M., Rustigan R. i Zimmermann A., 1943, *J. Bact.*, **45** : 101.
648. Sukniew W. W. i Wolferc G. A., 1932, *Wiestn. Mikrobiol. Epidemiol. Immunol.*, **11** : .
649. Sukniew W. W., 1953 *Z. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.*, **14** : 760.
650. Sukniew W. W. i Timakow W. D., 1937, *Z. Mikrobiol Epidemiol. Immunol.*
651. Szymanowski Z., 1930, *Med. Dośw. Spol.*, **12** : 151.
652. Tao S. M., 1931, *Nat. Med. J. of China*, **17** ; 167 wg *Zentr. Bakter., I, Ref.*, 1932, **106** : 449.
653. Tatum E. L., 1946, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **11** : 278.
654. Tatum E. L. i Lederberg J., 1947, *J. Bact.*, **53** : 673.
655. Taugwalder R., 1946, *Bull. Soc. Botan. Geneve*, **38** : 1 wg *Biol. Abstr.* 1950, **24** : 152, entry — 2005.
656 Tavlitzki J., 1949, *Ann. Inst. Pasteur*, **76** : 497.
657. Taylor E. S., 1947, *J. gen. Microbiol.*, **1** : 86.
658. Taylor H. E., 1949, *J. exp. Med.*, **89** : 309.
659. Theiss O., 1943, *Deutsch. tierärztl. Wschr.*, **51** : 115.
660. Timakow W. D., Michelson R. S., Koladicka L. S. i Szmurygina A. A., 1953, *Z. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.*, z **11** : 5.

661. Timoffeeff-Ressovsky N. W., 1949, Mutations and geographical variations w J. Huxley; The new systematics.
662. Tierientiew F., 1936, *Trudy Konf. po Izmiencz. i Bakteriofagii.* Kijew : 116.
663. Tierientiew F. A., 1939, *Tr. Inst. Mikrobiol. Epidemiol.*, : 175.
664. Tittsler i Sandholzer ., 1935, *J. Bact.*, **29** : 349.
665. Toeniessen E., 1914, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **73** : 241.
666. Towarnicki W., 1946, *Z. Mikrobiol. Epidemiol. Immunol.*, z 8/9 : 35
667. Troicki W. L., Pierszyna Z. G. i Sołowiew N. N., 1950,: O miechanizmie obrazowanja liekarstwienno ustojczywych form baktierii, w Woprosy Chimiotierapii baktierialnych infekcji, AN SSSR., : 97.
668. Troicki W. Ł., Pierszyna Z. G. i Sołowiew N. N., 1953, *Stud. Cercet. Microbiol. Inframicrobiol. Parazitol. Acad. RPR.*, **4** : 145.
669. Troland L. T., 1917, *Amer. Naturalist*, 51 : 321.
670. Tulasne R. i Vendrely R., 1947 a, *C. r. Soc. Biol.*, **141** : 674.
671. Tulasne R. i Vendrely R., 1947 b, *Nature*, **160** : 225.
672. Tulasne R. i Vendrely R., 1948, *Nature*, **161** : 317.
673. Tulasne R., 1949, *C. r. Acad. Sci.*, **229** : 561.
674. Tulasne R., Minck R. i Minck A., 1949, *C. r. Acad. Sci.*, **228** : 1262.
675. Tumanski W. M., 1948, Mikrobiologia czumy. Medgiz. Moskwa.
676. Twort F. W., 1907, *Proc. Roy. Soc., B*, **79** : 329.
677. Ulman L. i Baldwin J., 1933, *J. Bact.*, **26** : 229.
678. Umbreit W. W.,1949, *J. Biol. Chem.*, **177** : 703.
679. Vacirca F., 1947, *Boll. Soc. Italiana Biol. Speriment.*, **23** : 107.
680. Van Loghem ., 1937, *Ant. van Leeuwenhoek J.* **4** : 113.
681. Van Niel C. B., 1946, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **11** : 285.
682. Van Niel C. B., 1949, *Bact. Rev.*, **13** : 161.
683. Van Seeghem R., 1935. *C. r. Soc. Biol.*. **120** : 1379 i *Zentr. Bakter. I*, 1936, **121** : 532.
684. Vaudremer A., 1923, *C. r. Soc. Biol.*, **89** : 80.
685. Vejdovsky F., 1904, *Zentr. Bakter.*, II, **41** : 427.
686. Vendrely R. i Lipardy ., 1946, *C. r. Acad. Sci.*, **223** : 342.
687. Virtanen A. I., 1948, *Svensk. Kem. Tidskr.*, **60** : 23.
688. Visconti N. i Delbrück M., 1953, *Genetics*, **38** : 5.
689. Vollmar H. i Li S. T., 1940, *Arch. exp. Zellforschg.*, **24** : 181.
690. Voss E., 1952, *Arch. Mikrobiol.*, **18** : 101.
691. Voureka A., 1952, *J. gen. Microbiol.*, **6** : 352.
692. Walker A. W. i Youmans G. P., 1940, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*. **44** : 271.
693. Wamoscher L., 1932, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **127** : 136.
694. Warbasse W. W. i Johnson F. H., 1950, *J. Bact.*, **60** : 279.
695. Ware G. C., 1951, *J. gen. Microbiol.*, **5** : 880.
696. Weil A. J., 1947, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **64** :
697. Weil A. J. i Binder M., 1947, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **66** : 349.
698. Weil E. i Felix A., 1917, *Wien. Klin. Wschr.*, **30** : 1509.
699. Weinberger J., Madoff S. i Dienes L., 1950, *J. Bact.*, **59** : 765.
700. Welsch M., Nihoul E. i Demeleune-Jaminon G., 1948, *C. r. Soc. Biol.*. **142** : 1452.
701. Werkman C. H. i Gillen ., 1932, *J. Bact.*, **23** : 167.
702. Werkman C. H. i Wilson P. W., 1951, Bacterial Physiology, Academic Press, N. York.
703. White H. R., 1951. *Nature*. **168** : 828.

704. Weiggert W. P. i Werkman C. H., 1939, *Biochem. J.*, **33** : 1061.
705. Wilson G. S. i Miles A. A., 1946, Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, Arnold and Co., London.
706. Winkler A., Knoch M. i König H., 1951, *Naturwissenschaften*, **38** : 241.
707. Winogradsky S., 1888, Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien, A. Felix, Leipzig.
708. Winogradsky S., 1889, *Ann. Inst. Pasteur*, 3,
709. Winogradsky S., 1937, *Soil. Sci.*, **43** : 666 — 668, w „Microbiologie du Sol" 1949, Masson et Cie, Paris i tłum. polskie PWRL, Warszawa, 1951, (707—709).
710. Witkin E. M., 1947, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **12** : 256.
711. Witkin E. M., 1948, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **34** : 442.
712. Wittler R. G., 1952, *J. gen. Microbiol.*, **6** : 311.
713. Won W. D., 1950, *J. Bact.*, **60** : 102.
714. Wood E J. F.,1949, *Nature*, **164** : 867
715. Wróblewski W., 1931, *Med, Dośw. Społ.*, **13** : 155.
716. Wyatt G. R., 1951, *Biochem. J.*, **48** : 581, 584.
717. Wyckoff R. W. G., 1933, *J. exp. Med.*, **57** : 165.
718. Wyckoff R. W. G., Hampp E. G. i Scott D. B., 1948, *J. Bact.*, **56** : 755.
719. Wyss O., Stone W. S. i Clark B. J., 1947, *J. Bact.*, **54** : 767.
720. Wyss O., Clark J. B., Hass F. O. i Stone W. S., 1948, *J. Bact.*, **56** : 51.
721. Wyss O., 1951, Chemical factors affecting growth and death w Werkman i Wilson, 1951.
722. Yegian D. i Budd V., 1951, *J. Bact.*, **61** : 161, 167.
723. Yudkin J., 1938, *Biol. Rev.*, **13** : 93.
724. Zadik P., 1951, *Schweiz. Med. Wchschr.*, **81** : 281.
725. Zelle M. R. i Lederberg J., 1951, *J. Bact.*, **61** : 351.
726. Zilber Ł. A., 1928, *Paraimmunitet*, Moskwa.
727. Zilber Ł. A., 1953, *Mikrobiologia*, **22** : 81
728. Złatogorow S. I., 1904, *Russkij Wracz.*
729. Żukow-Wierieżnikow N. N., 1945, *Ż. Mikrobiol., Epidemiol., Immunol.* z. 4/5. z. 4/5.
730. Żumatow C. Z., 1953, *Mikrobiologia*, **22** : 580.
731. Bisset K. A. i Moore F. W., 1949, *J. gen. Microbiol.*, **3** : 387.
732. Bergey's Manuel of Determinative Bacteriology 6-th ed., 1948, Williams and Wilkins Co, Baltimore.
733. Błagowieszczenski A. W., 1950, Biochimiczeskije osnowy ewolucyjnogo procesa u rastienij., AN SSSR, Moskwa.
734. Boszjan G., 1950, O naturze wirusów i bakterii (tłum. z ros.), PIWRL, Warszawa.
735. Bryant M. P., 1952, *J. Bact.*, **64** : 325.
736. Carrel A., 1938, Man the Unknown.
737. Carrol L., Alice's adventures in the Wonderland.
738. Darwin Ch., 1875, O pochodzeniu człowieka (tłum. I. Masłowskiego), Księgarnia Polska, Lwów.
739. Dieudonné A., 1895, *Biol. Zentral.*, **15** : 103
740. Eagle H., 1954, *J. exp. Med.*, **99** : 207.
741. Fischer A., 1907, *Berichte deutsche botan. Ges.*, **24** : 55.
742. Frey - Wyssling A., 1948, Submicroscopic morphology of protoplasm. Elsevier Publ. Co., N. York.
743. Gale E. F., 1949, *Symp. Soc. Exp. Biol. (Cambr.)*, **3** : 233.

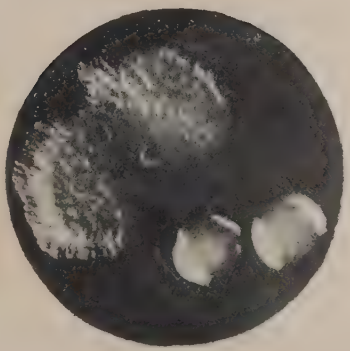
744. Garbowski L., 1907, *Zentr. Bakter., II*, **19** wg Benecke 1912.
745. Geltcer R. R. i Kryłowa O. P., 1953, *Ż. Mikrobioł. Epidemiol. Immunobioł.* z. 12.
746. Grajewski E. J., 1947, *Priroda*, **11** : 57.
747. Grajewski E. J., 1948, *Usp. Sowr. Bioł.*, **25** : 2.
748. Grajewski E. J., 1954, *Usp. Sowr. Bioł.*, **37** : 158.
749. Grajewski E. J. i Oczinska G., 1953, *D. A. N. SSSR*, **89** : 737.
750. Guilliermond A., 1908, *Arch. Protistenkunde*, **12** : 9.
751. Hawker L. E., 1951, *Biochem. Soc. Symp.*, **7** : 52.
752. Heinmets F., 1953, *J. Bact.*, **66** : 455.
753. Heinmets F., Taylor W. W. i Lehman J. J., 1954, *J. Bact.*, **67** : 5.
754. Hershey A. D., 1938, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **38** : 128.
755. Hinshelwood C. N., 1949, *Symp. Soc. Exp. Biol. (Cambr.)*, **3** : 243.
756. Horoszewicz J., 1953, *Acta Microbiol. Polon.*, **2** : 121.
757. Jensen H. L., 1952, *Ann. Rev. Microbiol.*, **6** : 76.
758. Kłyszejko L., 1953, *Post. Hig. Med. Dośw.*, **7** : 104, 198.
759. Kozłowski R., 1951, Ewolucjonizm a problemy paleontologii., Mat. Konf. Agrobiol. Biol. Med. w Kuźnicach, Książka i Wiedza, Warszawa.
760. Miéhe H., 1907, Selbsterhitzung des Heues, Jena, wg Benecke 1912.
761. Miles A. A. i Pirie N. W., (red.), The nature of the bacterial surfaces, Blackwell Sci. Publ., Oxford.
762. Monod J., 1942, La croissance des cultures bacteriennes, Herman, Paris.
763. Muromcew S. N., 1953, Izmienczivost' mikroorganizmow i problemy immuniteta, Gos. Izd. Siel. Choz. Lit., Moskwa.
764. Omelianski W. L., 1940, Prakticzeskoje rukowodztwo po mikrobiologii, AN SSSR, Moskwa.
765. Pollock M. R., 1953, *Brit. J. exp. Pathol.*, **34** : 251.
766. Poe C. F. i Tregoning J. J., 1952, *Univ. Colorado Stud. Ser. Chem. Pharm.*, **1** : 38, wg *Biol. Abstr.*, 1954, **28** : 624.
767. Preiss W. 1904, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **35** : 280.
768. Rahn O., 1939, *Zentr. Bakter., II*, **100** : 369.
769. Robinow C. F., 1953, *J. Bact.*, **66** : 300.
770. Saz A. K. i Eagle H., 1953, *J. Bact.*, **66** : 347.
771. Sauerbeck, 1909, *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **50** : 572.
772. Schanderl H., 1953, *Naturwissenschaften*, **40** : 296.
773. Sergent E., 1928, *La Presse Med.*: 897.
774. Silver H. K. i Kempe C. H., 1947, *J. Immunol.*, **57** : 263.
776. Stapp C., 1953, *Naturwissenschaften*, **40** : 618.
777. Stewart F. H., 1926b, *J. Hyg.*, **25** : 333..
778 Swellengrebel H. N., 1906, 1907, 1909, *Zentr. Bakter., II*, **16** : 617, **19** : 193 i *Zentr. Bakter., I, Orig.*, **49** : 529.
779. Sztern J. A., 1954, *Mikrobiologia*, **23** : 147.
780. Umbarger H. E., 1953, *J. Bact.*, **66** : 328.
781. Winogradsky S., 1902, *Zentr. Bakter. II*, **9** : 43.
782. Wolff F., 1909, *Z. ind. Abstamm. Vererblehre*, **2** : 90.
783. Żołkiewicz A. J., 1952, *Usp. Sowr. Bioł.*, **33** : 100.
784. Wagner R. P., 1949, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **35** : 185.

Tablica I

1

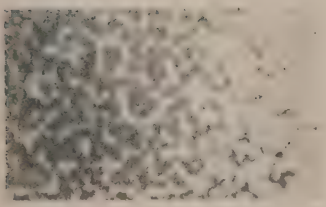
2

3

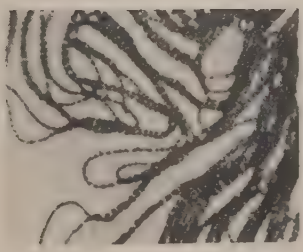


5

4



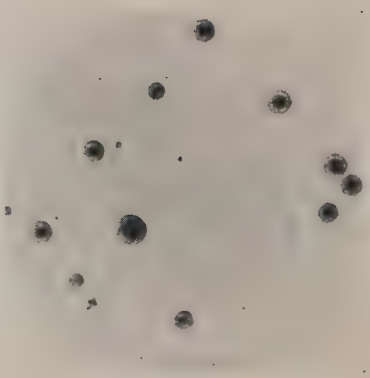
6



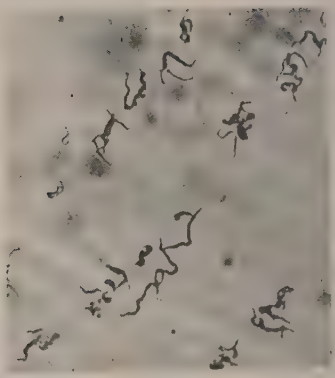
7

Acta Microbiologica Polonica — str. 338 i 339.

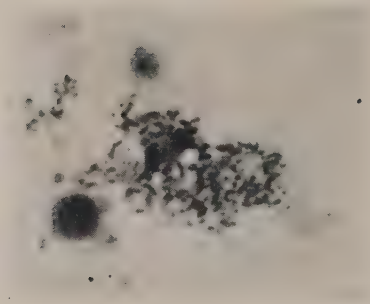
Tabela II



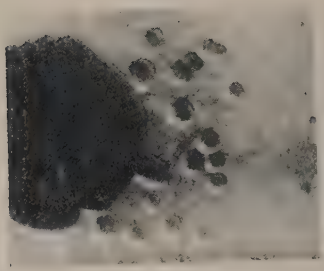
8



9

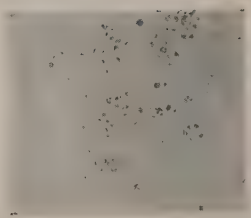


10



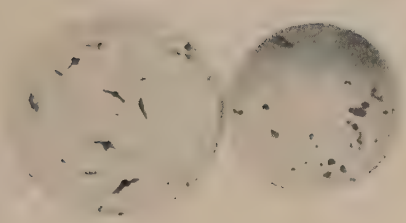
11

12

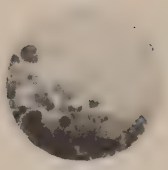


13

Tablica III



14

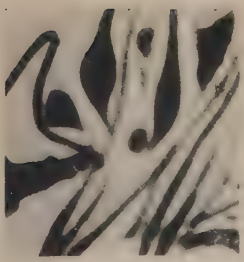


15

16

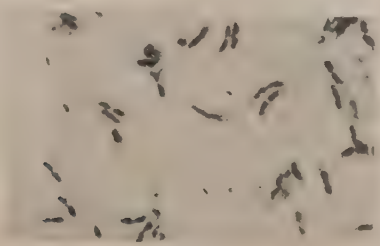
20

17



18

19



21

Objaśnienia

Tablica I

Fot. 1 — *Proteus vulgaris* 24-godzinna hodowla. 1000 ×
Fot. 2 — *Proteus vulgaris* 48-godzinna hodowla. Zmiana wielkości bakterii w czasie rozwoju hodowli. 1000 ×
Fot. 3 — *Corynebacterium diphteriae (gravis)*. Barwiona błona komórkowa. Widoczne wielokomórkowe maczugowce. 3000 ×
Fot. 4 — *Corynebacterium sp.* z pochwy kobiecej. Barwiona błona komórkowa. Wielokomórkowość bakterii. 3000 ×
Fot. 5 — *Salmonella typhi*. Gładka (po lewej stronie) i szorstka (po prawej) faza. Hodowla agarowa. 8 ×
Fot. 6 i Fot. 7 — Paciorkowce — Preparaty odciskowe z kolonii dwóch różnych faz.
Fot. 1, 2 i 5 — z Wilson i Miles (1946).
Fot. 3 i 4 — z Bisset (1949).
Fot. 6 i 7 — z Fleck i Elster (1932).

Tablica II

Fot. 8 — Karłowate kolonie szczepu No 1. Dwumiesięczna hodowla na agarze. 30 ×
Fot. 9 — Karłowate kolonie „N" pałeczki grupy *coli-aerogenes* niesyntetyzującej metioniny. Pożywka syntetyczna.
Fot. 10 — Mikrokolonia typu L.
Fot. 11 — Karłowate kolonie regeneracyjnych form *Rhizobium*. Hodowla z „kormiłką".
Fot. 12 — L kolonia *Shigella*. Agar z penicyliną i surowicą.
Fot. 13 — Wczesne stadium rozwojowe dużych ciał kulistych pałeczek *Flexnera*. Agar z surowicą + 4000 j/ml penicyliny. 560 ×

Fot. 8 — z Sołncewy (1935).
Fot. 9 — z Monod wg. Lwoff (1946).
Fot. 10 — z Dienes.
Fot. 11 — z Izrailskiego (1953).
Fot. 12 i 13 — z nieopublikowanej pracy Kwiatkowskiego i Iwanickiej.

Tablica III

Fot. 14 i 15 — Przemiany postaci u *Vibrio metchnikovi*, przypominające cykl tworzenia dużych ciał kulistych.
Fot. 16 — *Pasteurella pestis*. Agar odżywczy z 0,1% LiCl. Barwione met. Robinowa. Nukleoidy w dużym ciele kulistym. 3000 ×
Fot. 17 — Ciała regeneracyjne i gonidiangia u *Clostridium*. Twory podobne do ciał kulistych. Wg Hiblera.
Fot. 18 — *Proteus sp.* Agar z 400 j/ml penicyliny. Barwione Giemsą. Powstawanie dużych ciał kulistych. 3000 ×
Fot. 19 — *Borrelia* z 5-dniowej hodowli. Preparat w mikroskopie elektronowym. Ciało kuliste. 7000 ×
Fot 20 — *Corynebacterium diphteriae (intermedius). Nukleoidy*. Barwione metodą Robinowa. 3500 ×

Fot. 21 — *Myxococcus virescens*. Nukleoidy.
Fot. 14 i 15 — z Kuhn i Sternberg (1931).
Fot. 16 i 18 — z Klieneberger-Nobel (1949).
Fot. 17 — z Gottschliecha (1929).
Fot. 19 — z Bryanta (1952).
Fot. 20 — z Hewitta (1951).
Fot. 21 — z Badiana (1930).

SPIS TREŚCI

str.

I. Wstęp
Bakterie jako obiekt badania procesu zmienności. Odrębność bakterii i organizmów wyższych. Swoiste cechy, wyróżniające stosunki między bakteriami a środowiskiem 200
Rozdział I. Istota zagadnienia zmienności bakterii . 204
Rozdział II. Indywiduum i gatunek u bakterii
A) Osobnik
Konieczność operowania pojęciem osobnika. Pojęcie indywiduum w bakteriologii w rozwoju historycznym. Względność pojęcia osobnika. Osobnik I rzędu u bakterii. Kolonia (hodowla) jako osobnik II rzędu . 206
B) Gatunek
Przegląd zapatrywań na gatunek w bakteriologii. Gatunek jako jednostka klasyfikacyjna i gatunek jako zjawisko biologiczne. Gatunek nomenklaturowy bakterii i jego stosunek do gatunku biologicznego 209
Rozdział III. Klasyfikacja zjawisk zmienności . . . 216
Rozdział IV. Zmienność rozwojowo-przystosowawcza
A) Cytomorfoza
Zmienność osobnicza w obrębie indywiduum II rzędu. Cytomorfoza jako reakcja przystosowawcza bakterii 221
B) Heteromorfoza
1. Określenie pojęcia i znaczenie biologiczne. Historia zagadnienia. Zjawiska dysocjacji bakteryjnej jako proces heteromorfozy. Heteromorfoza jako reakcja przystosowawcza . . 225
2. Mechanizm heteromorfozy
Poglądy Brauna. Dysocjacje jako przejaw spontanicznych mutacji. Krytyka tych poglądów. Indukowanie przemian heteromorfozy . 228
Rozdział V. Heteromorfoza involucyjno-regeneracyjna
Formy reaktywne. Postaci przesączalne bakterii. Cykl *L* u bakterii. Stosunek wzajemny form gonidialnych Hadleya, form awizualnych Kaliny, form *C* Kuhna, form *L*. Drobnoustroje Seiffertа i Laidlow-Elforda a formy *L. Borrelliomycetaceae* a formy *L*. Heteromorfoza involucyjno-regeneracyjna jako reakcja przystosowawcza. Rola heteromorfozy w procesie zmienności modyfikacyjnej 232
Rozdział VI. Zmienność właściwa modyfikacyjna, cz. I . . . 244
1. Zmienność typu *coli mutabile* i krytyka pracy Lewisa.
Historia zagadnienia. Krytyka prac Lewisa i Ryana. Mechanizm utraty i odzyskiwania zdolności do przeprowadzania rakcji enzymatycznej. Indukcja zmienności typu *coli mutabile* . . 245
2. Inne typy zmienności funkcji glikolitycznych.
Enzymy adaptacyjne. Poglądy Yudkina. Zapatrywanie Hinshelwooda. Mechanizm adaptacji enzymatycznej. „Trenowanie" bakterii . 255
Rozdział VII. Zmienność właściwa modyfikacyjna, cz. II.
3. Powstawanie form opornych na czynniki bakteriobójcze i krytyka poglądów Demereca.
Sprzeczności wyników Demereca z hipotezą mutacji spontanicznych. Fakty przemawiające za hipotezą adaptacyjną. Mechanizm nabywania oporności u bakterii. Oporność jako wynik adaptacji enzymatycznej . 264

Rozdział VIII. Zmienność właściwa modyfikacyjna, cz. III

4. Powstawanie form opornych na fagi i krytyka poglądów Lurii i Delbrücka.
Nieprzydatność „metody fluktuacji" dla dokonania wyboru między hipotezą spontanicznych mutacji i hipotezą adaptacji. Nabywanie oporności jako adaptacja enzymatyczna 278
5. Zmienność pigmentacji kolonii 283
6. Zmienność antygenów bakteryjnych.
Prace Brunnera i Edwardsa. Inne przykłady zmienności antygenów 286
7 Mutilacje
Zmiany wywoływane przez promieniowanie jonizujące. Teoria „trafienia" („tarczy") i jej krytyka. Mechanizm działania promieni jonizujących. Substancje radiomimetyczne. Inne czynniki wywołujące mutilacje . . . 288

Rozdział IX. Zmienność właściwa modyfikacyjna, cz. IV.

Mechanizm zmienności
Przeciwstawne hipotezy dotyczące mechanizmu zmienności modyfikacyjnej. Krytyka pewnych koncepcji genetycznych w mikrobiologii. Podłoże zmienności. Ośrodki korelujące i kierujące procesami enzymatycznymi. Zagadnienie jądra u bakterii. Pojęcie nukleoidu. Mitochondria. Rola kwasów nukleinowych. Zmienność jako wynik odkształcenia enzymów i nukleoproteidowych ośrodków korelujących. Rola środowiska w mechanizmie zmienności modyfikacyjnej. Mutacje i czynniki środowiska. Iluzoryczność spontaniczności mutacji 295

Rozdział X. Zagadnienie płciowości i hybrydyzacja u bakterii
A) Dawniejsze badania. Autogamia Przemiana pokoleń. Niedostatek materiału dowodowego. 307
B) Transformacja
Przebieg transformacji u pneumokoków, jej mechanizm i istota. Inne przykłady transformacji. Dawniejsze obserwacje o pokrewnym charakterze. 309
C) Hybrydyzacja bakterii. Doświadczenia Tatuma i Lederberga. Inne obserwacje przemawiające za istnieniem krzyżowania u bakterii . 313
D) Ogólne rozważania nad płciowością u bakterii. Płciowość u grzybów. Możliwe mechanizmy krzyżowania. Rola hybrydyzacji w procesie zmienności bakterii 315

Rozdział XI. Procesy gatunkotwórcze u bakterii
Troistość procesu gatunkotwórczego. Rola zmienności modyfikacyjnej. Rola hybrydyzacji. Rola selekcji. Poglądy na ewolucję u bakterii. Filogeneza bakterii. Zakończenie. Znaczenie i perspektywy badań nad zmiennością u bakterii . 317

ИЗМЕНЧИВОСТЬ БАКТЕРИЙ

ОГЛАВЛЕНИЕ

стр.

Введение
Бактерии как объект изучения процесса изменчивости — Обособленность бактерий в сравнении с высшими организмами — Своеобразные признаки, характеризующие отношения между бактериями а средой 200

Глава I. Сущность вопроса изменчивости у бактерий 204

Глава II. Индивид и вид у бактерий
а) Особь
Необходимость оперирования понятием индивида — Историческое развитие понятия индивида в бактериологии — Относительность понятия особи — Особь I порядка у бактерий — Колония (культура) как особь II порядка 206
в) Вид
Обзор взглядов на вид в бактериологии — Вид как классификационная единица и вид как биологическое явление — Вид номенклатурный бактерий и его отношения к биологическому виду 209

Глава III. Классификация явлений изменчивости 216

Глава IV. Изменчивость развития в зависимости от способности к адаптации.
А. Цитоморфоз
Изменчивость особи в пределах индивида II порядка — Цитоморфоз как приспособительная реакция у бактерий 221
В. Гетероморфоз
1. Определение понятия гетероморфоза и биологическое его значение — История вопроса — Явления бактериальной диссоциации как процесс гетероморфоза — Гетероморфоз как приспособительная реакция 225
2. Механизм гетероморфоза — Взгляды Брауна — Диссоциация как проявление спонтанических мутаций — Критика этих взглядов — Направленная индукция перемен гетероморфоза 228

Глава V. Инволюционно-регенерационный гетероморфоз
Реактивные формы — Фильтрующиеся формы бактерии — Цикль *L* у бактерий — Сопоставление гонидиальных форм Гадлея, авизуальных форм Калины, форм *C* Куна и форм *L* — Микроорганизмы Зайфферта и Лейдлоу-Эльфорда а формы *L* — *Borrellomycetaceae* а формы *L* — Инволюционно-регенерационный гетероморфоз как приспособительная реакция — Роль гетероморфоза в процессе модификационной изменчивости 232

Глава VI. Собственно модификационная изменчивость, Часть I 244

1. Изменчивость типа *coli mutabile* и критика работы Люиса. — История вопроса — Критика работ Люиса и Раена — Механизм потери и восстанавливания способности к производению энзиматической реакции — Индукция изменчивости типа *coli mutabile* 245

2. Прочие типы изменчивости гликолитических функций.
Адаптационные энзимы — Взгляды Юдкина — Воззрения Гиншельуда — Механизм энзиматической адаптации — „Приучание" бактерий 255

Глава VII. Собственно модификационная изменчивость, Часть II.

3. Возникание форм устойчивых против бактериоцидных факторов и критика взглядов Демерека.
Противоречия результатов Демерека с гипотезой спонтанических мутаций — Факты говорящие в пользу адаптационной гипотезы — Механизм возникания устойчивых форм — Устойчивость как результат энзиматической адаптации 264

стр.

Глава VIII. Собственно модификационная изменчивость, Часть III.
4. Возникание фагоустойчивых форм и критика взглядов Люрии и Дельбрика.
Непригодность „метода флюктуации" для решения вопроса, какова из гипотез является правильной: гипотеза спонтанических мутаций или адаптационная гипотеза — Образование фагоустоичивых форм как результат энзиматической адаптации 278
5. Изменчивость пигментации колоний 283
6. Изменчивость бактериальных антигенов.
Параиммунитет — Работы Брунера и Эдуардса — Другие примеры изменчивости антигенов 286
7. Мутилации.
Изменения вызываемые ионизирующим излучением — Теория мишени и ее критика — Механизм действия ионизирующих излучений — Радиомиметические субстанции — Прочие факторы, вызывающие мутилации 288
Глава IX. Собственно модификационная изменчивость, Часть IV. Механизм изменчивости.
Диаметрально противоположные гипотезы, относящиеся к механизму модификационной изменчивости — Критика некоторых концепций видообразования у бактерий — Основа изменчивости — Центры коррелятивные и управляющие энзиматическими процессами — Проблема ядра у бактерий — Сущность нуклеоида — Митохондрия — Роль нуклеиновых кислот — Изменчивость как результат деформации энзимов и нуклеопротеидных коррелятивных центров — Роль среды в механизме модификационной изменчивости — Мутации и факторы среды — Призрачность спонтанических мутаций 295
Глава X. Проблема пола и гибридизации у бактерий.
а) Прежние исследования — Автогамия — Чередование поколений — Недостаточность доказательств 307
б) Трансформация — Ход трансформации у пневмококков, ее сущность и механизм — Другие примеры трансформации — Прежние наблюдения по этому вопросу 309
в) Гибридизация у бактерий — Опыты Тейтема и Ледерберга — Другие наблюдения подтверждающие выступание скрещивания у бактерий 313
г) Общие рассуждения в связи с проблемой пола у бактерий — Проблема пола у грибов — Возможные механизмы скрещивания — Роль гибридизации в процессе изменчивости у бактерий 315
Глава XI. Видообразующие процессы у бактерий.
Тройственность видообразующего процесса — Роль модификационной изменчивости — Роль гибридизации — Роль селекции — Взгляды на проблему эволюции у бактерий — Филогенез бактерий
Заключение. Значение и перспективы исследований над изменчивостью у бактерий 317

BACTERIAL VARIATION

CONTENTS

page

Introduction 200
Bacteria as a subject for the study of the variation of living organisms — Bacteria and higher organisms — The differences between the system „bacteria-environment" and system „higher organism — environment".

Chapter I. The chief problems of the study of bacterial variation . . . 204

Chapter II. The individual and the species in bacteriology . . . . . .
A. The individual 206
Indispensability of the term „individual" in the study of bacterial variation — Historical outline — The relativity of the concept of individual — Two categories of bacterial individuals — Bacterial colony as a biological entity — Bacterial individual of II category.
B. The species 209
Historical — The species as a taxonomic unit and as a biological phenomenon — Usefulness and soundness of the criteria upon which bacterial classification is based.

Chapter III. Classification of bacterial variations 216

Chapter IV. The adaptive variation of development 221
A. Cytomorphosis 221
The morphological and physiological changes during the growth of bacterial colony (culture): — Cytomorphosis as an adaptive response to the stimulus of the changed environmental conditions.
B. Heteromorphosis 225
1. The definition of the term and the biological role of heteromorphosis — Historical outline — The bacterial dissociation as a phase of heteromorphosis — Heteromorphosis as the direct response to the environmental changes.
2. The mechanism of heteromorphosis — The experiments of B r a u n The role of the environment and of the spontaneous mutations — Does the B r o w n's observation prove spontaneous mutations to be the cause of dissociation — The bacterial dissociations as the direct response to the changed conditions of life.

Chapter V. The regenerative-involutionary heteromorphosis 232
Regenerative forms of bacteria — Filtrable forms of bacteria — L-cycles in bacteria — The L-forms in relation to the H a d l y's G-forms, K a l i n a's „avisual" forms, K u h n's C-forms — Saprophytic pleuropneumonialike organisms and the L-forms — Regenerative-involutionary heteromorphosis as the adaptive respons to the change of environmental conditions during growth of the culture — The role of regenerative-involutionary heteromorphosis in the process of directed variation.

Chapter VI. Directed adaptive variation. Part I. 244
1. Changes of the *coli mutabile* type 245
Historical outline. — L e w i s's and R y a n's experiments and the critique of their interpretation — The mechanisms of variations affecting the breakdown of carbohydrates — Changes of the *coli mutabile* type as the induced variations.

page

2. Other changes affecting the utilization of various carbon sources . . . 255
Adaptive enzymes — Yudkin's mass action theory — Hinshelwoods theory — The „training" of bacteria to synthesize previously required substances or to ferment the carbohydrates. — The mechanism of variation of enzymic activity — The effect of the environment on the variations in biochemical reactions.

Chapter VII. Directed adaptivè variation. Part II 264

3. The acquired resistance to antibacterial substances. 264
Demerec's theory of selection of spontaneously appearing mutants — Is the acquired drug resistance explicable in terms of genetics? — The experimental results contradicting the theory of spontaneous mutation and selection — The mechanism of variation in the drug resistance. — The acquired resistance to antibacterial substances as the specific and unspecific induced enzymic adaptation.

Chapter VIII. Directed adaptive variation. Part III. 278

4. Variation in phage resistance. 278
The fluctuation method of Luria and Delbrück — The unusefulness of the fluctuation method for the elucidation of the mechanism of variation in phage resistance — The new interpretation of Newcombe's experiments — Evidence contradictory to the hypothesis of spontaneous mutational origin of phage resistant variants. — The induction of phage resistance.

5. Variation in pigment production. 283

6. Antigenic variations in bacteria. 286
Brunner's experiments. — The antigenic variation as the direct response to the environmental factors.

7. Mutilations. 288
The changes due to the radiation action. — The hit-theory and its critique. — The mechanism of action of radiation. — Radiomimetic substances and other mutagens.

Chapter IX. Directed adaptive variation. Part IV. 295

8. The mechanism of directed adaptive variations . . . . . .
Alternative hypothesis of the origin of adaptive changes in bacteria — Some conceptions of the evolution of species of bacteria and their critique. — The bacterial variation in relation to the cytology and submicroscopic structure of bacteria — Intracellular centres controlling and correlating enzymic activities — The problem of bacterial nucleus — „Nucleoid" and the nucleus of the cell of higher organisms. — Mitochondria in bacteria. — The role of nucleic acids. — Variation as the result of the induced changes in enzyme particles and in correlating centres.— The active role of the environment in inducing adaptive variations. — Mutations and the environmental factors. — Evidence suggesting that spontaneous mutations are caused by changes in external and internal factors.

Chapter X. The problem of sexuality and hybrydization in bacteria. 307

a) Historical. — Autogamia in bacteria. — The life-cycle in bacteria. — The scarcity of the experimental material on the sexual reproduction in bacteria.

page

b) Transformation. 309
The antigenic transformation in *Pneumococcus*, its mechanism and interpretations — Antigenic transformations in other bacteria — Previous observations of similar character.

c) Hybrydization in bacteria — The experiments of Tatum and Lederberg. — Other observations suggesting occurence in bacteria of the hybrydization. 313

d) The general discussion on the problem of sexuality in bacteria. — The sexuality in fungi. — Alternative mechanisms of hybrydization in bacteria — The role of hybrydization in bacterial variation. 315

Chapter XI. The evolutionary process in bacteria. 317
The threefold mechanism of the evolutionary process. — The role of induced adaptive variation in the bacterial evolution. — The role of the hybrydization. — The role of the selection. — Some concepts on the evolution of bacteria — The phylogeny of bacteria.
General conclusions. — The importance of the study of bacterial variation for the progress of the theoretical and practical bacteriology.

Komitet Organizacyjny
XIII Zjazdu Mikrobiologów Polskich
Poznań, ul. Stalingradzka 3
Tel. 37-57

Poznań, dnia 26.6.54.

Komunikat nr 4

Komitet organizacyjny XIII Zjazdu łącznie z Zarządem Głównym Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów uznał, wobec stale wzrastającego tempa rozwoju mikrobiologii i zbyt dużej ilości nadesłanych doniesień — urządzenie zjazdu w dotychczas przyjętych formach za niekorzystne. Ponieważ nowe formy organizacyjne Zjazdu wymagają dłuższego przygotowania, postanowiono termin Zjazdu odroczyć do września 1955 roku.

Komitet Organizacyjny XIII Zjazdu Mikrobiologów oraz Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów ograniczył problematykę Zjazdu do najważniejszych problemów. W związku z tym zwraca się do wszystkich mikrobiologów z apelem o wzmożenie prac w dziedzinach, które będą przedmiotem obrad XIII Zjazdu.

Prowizoryczny program XIII Zjazdu Mikrobiologów Polskich

Referaty na posiedzeniach plenarnych:

1. Zmienność drobnoustrojów
2. Rozwój nauki o antybiotykach

Zjazd będzie obradował w 6 sekcjach:

1. Mikrobiologia rolna, fizjologia drobnoustrojów oraz mikrobiologia ogólna,
2. Mikrobiologia środków spożywczych, przemysłowa i mikrobiologia wody,
3. Mikrobiologia i epidemiologia ricketsioz i schorzeń wirusowych,
4. Antybioza i antybiotyki,
5. Mikrobiologia i epidemiologia schorzeń jelitowych,
6. Immunologia i immunochemia.

Cena zł 10.—

PRENUMERATA CZASOPISM NAUKOWYCH NA ROK 1955

Jak najwcześniejsze zamówienie prenumeraty na rok 1955 zapewni nieprzerwaną, regularną dostawę czasopism i pomoże w prawidłowym ustaleniu ich nakładów.

Tytuł	Ilość nr w roku	Prenumerata roczna zł
Acta Biochimica Polonica	4	60,—
Acta Geologica Polonica	4	60,—
Acta Geophysica Polonica	4	48,—
Acta Microbiologica Pol.	4	40,—
Acta Physica Polonica	4	48,—
Archiwum Budowy Maszyn	4	60,—
Archiwum Hydrotechniki	4	60,—
Archiwum Górn. i Hutnictwa	4	60,—
Archiwum Elektrotechniki	4	60,—
Archiwum Mech. Stosow.	4	60,—
Biuletyn PAN Wydz. II jez.	4	20,—
Biuletyn PAN Wydz. III jez. ros.	10	50,—
Biuletyn PAN Wydz. IV jez. ros.	4	20,—
Biuletyn PAN Wydz. II jez.	4	20,—
Biuletyn PAN Wydz. III jez. zach.	10	50,—
Biuletyn PAN Wydz. IV jez. zach.	4	20,—
Chrońmy Przyr. Ojczystą	6	24,—
Czasopismo Geograficzne	4	28,—
Ekologia Polska	4	28,—
Ekonomista	4	60,—
Folia Biologica	4	48,—
Geodezja i Kartografia	4	40,—
Kosmos	6	42,—
Kwartalnik Historyczny	4	60,—
Kwartalnik Historii Kultury Materialnej	4	60,—
Kwartalni IPR = Sovietica	4	40,—
Kwartalnik Neofilologiczny	4	60.—
Meander	10	50,—
Myśl Filozoficzna	4	60,—
Nauka Polska (wersja pol.)	4	80,—
Postępy Astronomii	4	20,—
Postępy Fizyki	4	40,—
Postępy Hig. i Med. Dośw.	4	48,—
Przegląd Geograficzny	4	40,—
Przegląd Statystyczny	4	48,—
Przegląd Orientalistyczny	4	48,—
Roczniki Chemii	4	80,—
Sprawozdania z czynności i prac PAN	4	40,—
Wiadomości Archeologiczne	4	48,—
Wiadomości Chemiczne	12	48,—
Wszechświat	4	48,—
Życie Szkoły Wyższej	12	96,—

Zamówienie i wpłaty na prenumeratę

Wpłaty na prenumeratę należy przekazywać na konto PKO nr 1. — 110-14000, Centralna Ekspedycja PPK „Ruch" Warszawa, ul. Srebrna 12, podając na blankiecie tytuł zamówienia czasopisma.

Instytucje i biblioteki zamiawające różne czasopisma naukowe winny równocześnie z przekazem PKO podać na powyższy adres wykaz zamawianych czasopism, ilość egzemplarzy każdego tytułu oraz czasokres prenumeraty.

W Warszawie oraz miastach wojewódzkich przyjmuje „Ruch" zamówienia zbiorowe na czasopisma również z dostawą bezpośrednią. Instytucje i biblioteki mogą kierować zamówienia: w Warszawie — do Delegatury „Ruch", ul. Rutkowskiego 25, tel. 696-96, w miastach wojewódzkich — do miejscowych oddziałów wojewódzkich PPK „Ruch".